

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

UNIDAD DE POSGRADO

**Toxicidad aguda y dosis letal del hexafluorosilicato de
magnesio en ratas de laboratorio**

TESIS

Para optar el Grado Académico de Magíster en Estomatología

AUTOR

Justiniano Sotomayor Camayo

ASESOR

Juan Julio Gutiérrez Manay

Lima – Perú

1998

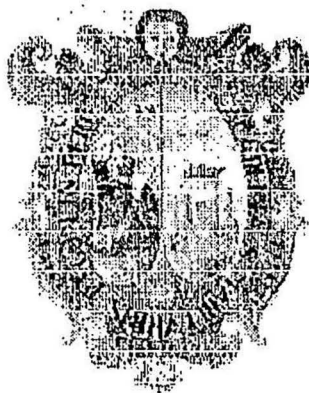
UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

(Universidad del Perú, Decana de América)

ESCUELA DE POST GRADO

UNIDAD DE POSTGRADO DE LA FACULTAD

DE ODONTOLOGIA



**TOXICIDAD AGUDA Y DOSIS LETAL DEL HEXAFLUOROSILICATO DE
MAGNESIO EN RATAS DE LABORATORIO**

**TESIS PARA OPTAR EL GRADO ACADEMICO DE
MAGISTER EN ESTOMATOLOGIA**

JUSTINIANO SOTOMAYOR CAMAYO

LIMA - PERU

1998

TOXICIDAD AGUDA Y DOSIS LETAL DEL HEXAFLUOROSILICATO DE MAGNESIO EN RATAS DE LABORATORIO

MAESTRISTA:

JUSTINIANO SOTOMAYOR CAMAYO

Prof. Asociado de Histología y Embriología
del departamento académico de ciencias
básicas. Facultad de Odontología
UNMSM.

ASESOR

Dr. JUAN JULIO GUTIERREZ MANAY

Profesor Principal del departamento
académico de ciencias básicas de la Facultad
de Odontología de la UNMSM.

A la memoria de mi madre que fue la artífice de mi formación profesional.

A mi padre por haberme inculcado la puntualidad y la responsabilidad.

A mis queridos hermanos Jorge, Hilda, Ruben, Daniel y Pilar, por sus consejos; comprensión e estímulo.

A mi esposa Violeta Isabel e hijos José Daniel y Edwing Issaac, por su estímulo permanente y por haberlos descuidado en la consecución de este propósito.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Juan Julio Gutiérrez Manay, mi maestro y asesor de esta tesis, sin el no sería docente universitario.

Al Dr. Víctor Velezmoro Lartiga, artífice de la Maestría en Estomatología por su constante estímulo.

A mis colegas de promoción de Pre grado y Maestría por su constante apoyo tanto en la docencia como en la Maestría que permitió hacer viable el presente trabajo.

A mis colegas de la asignatura de Histología y Embriología por su comprensión colaborando en todo momento para la financiación del presente trabajo.

JURADO EXAMINADOR:

DR.VICTOR LAHOUD SALEM	:	Presidente
DR.JUAN J. GUTIERREZ MANAY	:	Miembro
DR.CARLOS A. RIVAS BUTRON	:	Miembro
DR.LUIS H. GALVEZ CALLA	:	Miembro
DR. ANDRES LISHNER TOULLIER	:	Miembro

SUMARIO

CAPITULO I MARCO TEORICO

1.1 ANTECEDENTES	1
1.2 BASES TEORICAS	10
1.2.1 HEXAFLUOROSILICATO DE MAGNESIO	10
1.2.2 EQUILIBRIO SISTEMICO DEL FLUORURO	14
1.2.3 EFECTOS DEL FLUORURO EN EL MET.	18
1.2.4 TOXICOLOGIA DEL FLUOR	22
1.2.4.1 ETIOLOGIA DE LAS INTOXICACIONES	22
1.2.4.2 PROPIEDADES DE LOS FLUORUROS Y FLUOROSILICATO QUE INTERESA A LA TOXICOLOGIA.	24
1.2.4.3 TOXICIDAD AGUDA Y CRONICA POR FLUORUROS	25
1.2.4.4 MICRODETERMINACION EN MEDIOS BIOLOGICOS	32

CAPITULO II PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

2.1 AREA PROBLEMA	38
2.2 DELIMITACION Y DEFINICION DEL PROBLEMA	38
2.3 OBJETIVOS	39
2.3.1 GENERAL	39
2.3.2 ESPECIFICOS	39
2.4 HIPOTESIS	40
2.5 VARIABLES DE ESTUDIO	40

CAPITULO III MATERIALES Y METODOS

3.1 TIPO DE ESTUDIO	42
3.2 MUESTRA	42
3.2.1 UNIDAD DE MUESTRA	42

3.2.2 UNIDAD DE ANALISIS	43
3.2.3 TAMAÑO DE MUESTRA	43
3.3 DISEÑO DE ESTUDIO	
3.3.1 CONFORMACION DE GRUPOS	43
3.3.2 PROCEDIMIENTOS DE LABORATORIO	44
3.3.3 PROCEDIMIENTOS EXPERIMENTALES	45
3.3.4 CRITERIOS DE EVALUACION DEL PROCESO	45
3.4 ESTUDIO PILOTO	45
3.5 PLAN DE TABULACION Y ANALISIS ESTADISTICO	46
CAPITULO IV RESULTADOS	47
CAPITULO V DISCUSION	72
CAPITULO VI CONCLUSIONES	77
RECOMENDACIONES	79
RESUMEN	80
SUMMARY	82
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	83

INTRODUCCION

Diversas investigaciones científicas han demostrado que el ion flúor es un elemento capaz de prevenir la caries dental y que adicionado a diversos vehículos como el agua, la sal y la leche, entre otros alimentos, son formas seguras y efectivas de ser administradas. En efecto, hasta hace algunas décadas imperaba el concepto que los fluoruros actuaban principalmente aumentando la resistencia del esmalte a los ácidos producidos por las bacterias en la placa dental. Nuevas investigaciones han aclarado la importancia de otros efectos del fluoruro, entre ellos la remineralización de las lesiones iniciales o previas a la caries y algunos efectos antimicrobianos.

Como se aprecia, las ventajas del uso del flúor han sido extensamente estudiadas, Sin embargo también ha sido motivo de preocupación en la profesión los posibles efectos no deseados así como otros efectos secundarios y nocivos del flúor en caso de sobredosis que conllevaría a la intoxicación aguda y crónica.

Desde 1989, en el Perú se implementa el Programa Nacional de Prevención Masiva de la Caries Dental Mediante la Fluoración de la Sal de Consumo Humano, según el D.S. 010-86 M.S. Para los efectos del programa se utilizó el compuesto hexafluorosilicato de sodio. Actualmente una de las más importantes empresas productoras de sal desea emplear el hexafluorosilicato de magnesio: sin embargo, del compuesto químico no se tienen referencias de su uso en programas de

fluoruración, así como no se han establecido las dosis tóxicas y de letalidad.

En base a los conceptos anteriores el presente trabajo de investigación tiene como objetivo evaluar el potencial toxicológico agudo y la dosis letal del hexafluorosilicato de magnesio en animales de experimentación realizado a través de observaciones clínicas e histológicas en laboratorio, así como evaluar la relación entre el incremento de la dosis y la severidad de los signos.

Se utilizaron 40 ratas de laboratorio divididas en 8 grupos iguales. Las que fueron sometidas a diversas dosis del hexafluorosilicato de magnesio.

Los resultados de la investigación contribuyen con la información, necesaria para el conocimiento científico del efecto toxicológico clínico e histopatológico del incremento de dosis de hexafluorosilicato de magnesio en el agua de consumo en ratas de laboratorio.

CAPITULO I

MARCO TEORICO

1.1. ANTECEDENTES.

ZHANG. J. (1990) (47) reporta los efectos de tres dosis diferentes de NaF en ratas. El tiempo de exposición fue de 30 a 90 días. Los resultados mostraron que los índices de toxicidad tuvieron cambios significativos cuando se dieron dosis altas de NaF (3,37 mg. /kg.) a las ratas durante 30 días. Algunos índices tóxicos tuvieron cambios significativos cuando se midieron las dosis medias de NaF (1,12 mg./kg.) administradas a las ratas durante 90 días. Pero no hubo diferencias significativas cuando se compararon con los resultados del grupo control, a quienes se dieron bajas dosis de NaF (0.37 mg./kg.) durante 90 días.

WHITFORD G; BIRDSONG- WITFORD, N; FINIDORI, C. (1990) (42) usaron ratas en 3 experimentos que determinaron los valores LD50 agudo del flúor al ser administrado intragástricamente como NaF, monofluoruro difosfato sódico ($\text{Na}_2\text{PO}_3\text{F}$, MFP) o NaF y MFP. Otro estudio fue realizado para examinar la relación entre una resolución letal y los valores picos de la concentración de flúor en plasma. Se concluye afirmando que la muerte debido a los efectos agudos tóxicos del flúor fueron:

- 1.- Independientemente de la forma química en la que se administró.
- 2.- Independientemente del vehículo (dentífrico o agua)

3.- No predecible en términos de un rango límite bien definido de concentraciones picos de flúor en plasma.

WITHFORD G. (1990) (41) al estudiar las características fisiológicas y toxicológicas del flúor establece que la absorción gástrica, la distribución tisular y la excreción renal de los iones son todos influidos por la magnitud y dirección de la gradiente del PH entre los compartimientos de fluidos corporales adyacentes. Este mecanismo explica que la distribución y manipulación de los gradientes de PH transmembrana ha probado ser eficaz en la toxicidad aguda por flúor. El metabolismo comparativo y las toxicidades relativas de flúor iónico y el monofluorofosfato son debatidos. No hay la certeza de que exista diferencias entre los potenciales tóxicos agudos de fluoruro de sodio y los de MFP. Se concluye que la dosis probablemente tóxica (DPT) de fluoruro que merecería intervención terapéutica y hospitalización es de 5 mg/Kg de peso corporal. Como se sabe muchos productos contienen flúor, lo suficiente para exceder el PTD para niños pequeños. Se hace necesaria una investigación adicional acerca de las fuentes, efectos y destino de los compuestos orgánicos fluorurados. La atención está dirigida al hecho de que mientras las características metabólicas y los efectos del flúor en jóvenes adultos de mediana edad ha recibido considerablemente atención, existe un vacío sobre lo que ocurre en niños muy pequeños y ancianos.

DUNIPACE, A;BRIZENDINE, E; ZHANG, W; WILSON, M. (1995)

(11) evaluaron la hipótesis de que los cambios fisiológicos, ocurridos por la edad, incrementan el impacto biológico del flúor reduciendo los límites de seguridad a la exposición de flúor, 4 grupos de ratas fueron alimentadas con una dieta baja en flúor (<1.2 ppm.) y recibieron 0, 5, 15, y 50 ppm de flúor en el agua de beber. Los animales fueron sacrificados luego de 3, 6, 12 y 18 meses de tratamiento. Se monitorearon tanto la sangre como la orina utilizando marcadores bioquímicos de función tisular. Se analizaron: tejidos representativos, plasma, heces y orina en cuanto a las concentraciones de flúor. Además, la médula ósea, de los animales sacrificados fue examinada luego de 18 meses, para ver la frecuencia de cambio cromatídeo (SCE) el cual es un marcador de daño genético. Los resultados del estudio indicaron que en los grupos de tratamiento, la asimilación, excreción y retención del flúor no difirieron significativamente entre los 3 y los 18 meses. La concentración de flúor en los tejidos blandos no cambió con la duración de tratamiento en los animales tratados con flúor. La concentración de flúor en el tejido mineralizado y del flúor total en el esqueleto se incrementó continuamente conforme envejecían los animales. A pesar de las diferencias significativas relacionadas con la dosis en los niveles de flúor tisular que ocurrieron en todos los grupos etáreos en este estudio, no hubieron indicios de que el incremento del flúor en los tejidos causara algún efecto fisiológico o genotóxico adverso. Ningún marcador de tejido

monitoreado clínicamente en cuanto su integridad y función fue alterado por el flúor de una manera significativa. Por consiguiente no hubieron evidencias en este estudio de que el envejecimiento reduzca la resistencia a la exposición crónica de flúor.

EL COMITÉ DE EXPERTOS EN SALUD ORAL Y EN USO DE FLUORUROS DE LA OMS (1994) (33) trata sobre los biomarcadores de la exposición a fluoruros. Un biomarcador de fluoruros es de valor primario para identificar y monitorear deficiencias o ingestas excesivas de fluoruros biológicamente disponibles. El conocimiento de la biodisponibilidad de fluoruros durante los períodos pre-eruptivos de la formación dentaria permiten evaluar el potencial para el desarrollo de una fluorosis posterior, mientras el conocimiento de su disponibilidad post-eruptiva provee una guía para el nivel potencial de protección de caries. Los biomarcadores de fluoruros pueden servir también para evaluar el impacto de la fluorización del agua en la calidad ósea y otras condiciones fisiológicas.

WHITFORD. G. (1992) (46) afirma : "Comparado con la última mitad del siglo XIX y la primera del siglo XX, la frecuencia de tragedias resultantes de la ingesta de compuestos de flúor ha declinado dramáticamente. Desde 1978, han habido 4 tragedias causadas por la ingesta de flúor y todos debido a productos dentales. El número de

exposiciones a dosis peligrosas de flúor de todas maneras, se ha incrementado, como lo demuestran los reportes anuales de la Asociación Americana de Control de Centros de Envenenamiento. El número de reportes hechos a los centros de control de envenenamiento se ha incrementado de 770 en 1984 a 10.700 en 1989. Más de 3700 personas han sido tratadas por exposición al flúor durante este período, y 133 casos fueron considerados médicamente como moderados o severos".

Las fuentes de flúor se han limitado casi exclusivamente a las vitaminas que contienen flúor, y a los productos dentales. Basados en la revisión de las dosis involucradas en 4 tragedias (3 de ellas involucrando niños pequeños) la "probable dosis tóxica" de flúor ha sido establecida en 5 mg. de F/Kg. de peso corporal. Para niños menores de 6 años la dosis probablemente tóxica (DPT) puede hallarse con el contenido de diversas clases de productos dentales.

Acerca de los efectos adversos debido a la ingesta crónica de flúor (excluyendo la fluorosis dental), en los EEUU. no se evidenciaron efectos adversos, a pesar que el nivel de ingesta del agua potable contiene 4 ppm. Esta aseveración está en los reportes de 1990 y 1991 del Departamento de Salud y del Instituto Nacional de Cáncer.

De todos modos dos nuevos reportes han implicado la ingesta crónica de flúor, en niveles relativamente bajos con una altísima incidencia de fractura óseas. Esta relación requiere mayor investigación.

Toxicidad aguda.

Durante la última mitad del siglo XIX y la primera mitad del siglo XX el fluoruro de sodio fue comúnmente usado como pesticida en los EEUU., debido a ello el envenenamiento agudo intencional o accidental era reportado frecuentemente. Generalmente los casos más dramáticos eran causados por la similitud del fluoruro de sodio con productos en polvo (leche, harina, azúcar, bicarbonato). En 1965 HODGE Y SMITH notaron que hubo más de 600 muertes inducidas por flúor en los EEUU. desde 1933, y que aproximadamente el 1% de todas las muertes por envenenamiento se debían al flúor.

Estado común: con excepción de los productos dentales, los compuestos de flúor son raramente encontrados, por ello la incidencia de envenenamiento ha descendido marcadamente. Aún así, la tasa de exposición a cantidades potencialmente peligrosas de flúor se ha incrementado, especialmente entre los niños. En 1984 la Asociación Americana de Control de Envenenamientos (AAPCC) comenzaba su reporte anual con datos provenientes de esta Institución. El número de llamadas efectuadas a los centros de control de envenenamientos

involucrando flúor aumentaron de 3856 en 1984 a 7794 en 1989. Debido a que sólo el 50% de la población norteamericana estuvo representada en 1984 y que el 73% lo estuvo en 1989 se ha estimado que hubo un total de 7,700 llamadas en 1984 y 10,700 en 1989. Los niños jóvenes estuvieron involucrados en el 90% de todos los casos.

DOSIS TÓXICA ORAL AGUDA: La literatura contiene un amplio rango de estimados de la dosis tóxica aguda del flúor. DRIESBACH (1980) establece de 6 a 9 mg. F/Kg. LIDBECK (1943) establece que es superior a los 100 mg. F/Kg. Existen diversas explicaciones de esta discordancia, siendo la más importante la referida a la dosis ingerida. Basado en la revisión de la literatura, HODGE Y SMITH (1965) concluyen que la dosis letal de fluoruro de sodio de una persona de 70 Kg. es de 5 a 10 g. cuando son tomadas oralmente. Esto corresponde a una dosis de flúor de 32 a 64 mg. F/Kg., esta dosis es equivalente a un LD 100. Cualquier adulto que ingiera tal cantidad espera la muerte.

Entre las características de los 4 casos conocidos de muerte por ingesta de flúor, proveniente de productos dentales, podemos mencionar que : tres de los casos involucraron niños que tenían 3 años de edad, el otro involucró un anciano de 73 años. Se reportó vómito inmediato en 3 de los casos. Las dosis de flúor fluctuaron entre 4 a 30 mg. F/Kg. de peso corporal. Basados en estos datos, WITHFORD (1987, 1990) concluye que la dosis tóxica probable (PTD) de flúor es de 5 Mg. F/Kg. de peso

corporal. BAYLESS y TINANOFF (1985) llegaron a una conclusión similar.

La PTD (dosis tóxica probable) es definida como la dosis mínima que puede causar signos y síntomas tóxicos, incluyendo la muerte, que merece inmediata intervención y hospitalización. (WHITFORD 1987).

Toxicidad Gástrica: el estómago es un órgano blanco de los efectos adversos del flúor (BOWIE 1953, BOND-HUNT 1956, REED-SMY 1980; EASMANN 1984, 1985; PASHLEY 1984) Entre los tejidos blandos del cuerpo, la mucosa gástrica es expuesta frecuentemente a altísimas concentraciones del ión Flúor. El límite de la concentración del flúor para destruir la función de la barrera de la mucosa gástrica del perro es entre 1 a 5 mmol/L o 19 a 95 ppm (BIRDSING-WITHFORD 1989). Las náuseas y los vómitos son comunes entre los niños que reciben tratamiento con gel de APF (BELA y ROCK 1976; DUXBURY 1982) o pacientes osteoporóticos que ingieran 10-20 mg. de flúor una o dos veces al día (RIGGS 1980). Dentro del medio ácido del estómago, los iones de flúor se combinan con los protones para formar el ácido labil HF ($PK=3.4$). Algunos productos tales como los geles acidificados con ácido fosfórico, son formulados para tener un PH de 3-4 por lo que el 50% del flúor en el contenedor está casi en forma de HF. Comparado con el ión, la molécula de HF atraviesa las membranas celulares y epiteliales rápidamente (WITHFORD y PASHLEY 1984; WITHFORD 1989). Una vez que entra en

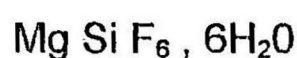
la mucosa, donde el PH es casi neutro, la molécula se disocia para liberar fluoruro iónico y protones. Asociado con esto existen diversos cambios estructurales relacionados con el tiempo y las dosis. Los flujos de agua, sodio, potasio, protones, y otros iones se incrementan rápidamente. La secreción mucosa aumenta seguida de una pérdida extensa de la capa mucosa; se presenta hiperémia, edema, y hemorragia (SPAK 1989). Las células de la superficie mucosa se desprenden y, si la concentración es lo suficientemente alta, las células parietales y principales que se unen profundamente en las criptas gástricas son dañadas o desprendidas. Estos efectos adversos de todos modos, son transitorios. En las ratas, los procesos de recuperación estructural y funcional comienzan dentro de las primeras 24 horas y se recobran completamente a la semana (EASMANN 1985).

1.2 BASES TEORICAS

1.2.1 HEXAFLUOROSILICATO DE MAGNESIO

Este fármaco considerado así porque previene la caries, y al permitir la remineralización del esmalte también cura, se aplica en una serie de casos y lo que es importante para la especialidad en la Fluoración del agua potable y la sal de consumo.

La formula química es :



MODO DE ACCION

El Hexafluorosilicato de magnesio es semejante al Flúor en cuando a su mecanismo de acción, es conocido que la obtención de la salud bucal puede conseguirse por el control de la placa dental, de la dieta y por el uso de Flúor. Las dos primeras medidas no nos permiten obtener un control absoluto de la caries dental, por lo que el Flúor es imprescindible en forma complementaria. Este concepto es Básico no solo para usar el Flúor, sino el Hexafluorosilicato de magnesio; y otras sustancias afines, para hacerlo de la manera mas racional posible. Por ello, es necesario conocer el modo y mecanismo de acción; de estas sustancias que tienen por finalidad prevenir la caries dental.

Actualmente se reconoce que el Flúor participa directamente en los procesos de desmineralización controlando el desarrollo del proceso

de la caries dental. Por lo tanto su acción no solamente es preventiva sino terapéutica, por ello se establecieron algunas premisas:

Quién no tiene posibilidad de tener caries no precisa de Flúor; sin embargo, el riesgo de caries existe en todos los individuos, porque no es posible el control de la placa bacteriana y de la dieta, lo que indica, afirmar que quien tiene posibilidad de tener caries precisa de Flúor, y quien tiene más posibilidad de tener caries precisara de más Flúor, es decir de más Flúor incorporado al diente y una presencia más constante de esta sustancia en la cavidad bucal para participar más activamente de todos los procesos de desmineralización y remineralización, procesos derivados de personas que ingieren azúcar con mayor frecuencia o que presentan deficiencias de factores salivales, que están más predispuestas a las caries.

MECANISMO DE ACCION

Según GORDON el fluoruro es el más efectivo y extensamente probado de los agentes anticaries actuales, ejerce varios efectos útiles sobre el sistema calcio fosfatos y, además, en el metabolismo de la placa dental. Los fluoruros pueden afectar las interacciones calcio-fosfato durante los estadios de mineralización del esmalte (antes que el diente erupcione) y, también, post-eruptivamente por interacciones superficiales con el esmalte, al igual que durante un ataque carioso.

Los componentes químicos primarios del esmalte son Ca^{2+} , PO_4^{3-} , OH^- y carbonato (CO_3^{2-}). En el esmalte y la dentina, esos componentes están en forma de microcristales y la disposición espacial de estos átomos semeja la hidroxiapatita mineral ternaria pura, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$. El carbonato es una parte integral de los cristales grandes de apatita del esmalte. Además, la fase mineral de los dientes contiene una gran cantidad de elementos minoritarios, siendo el más significativo de ellos el fluoruro. Algunos de los elementos son adsorbidos en la superficie de los cristales de hidroxiapatita; otros, con tamaño y carga apropiados pueden sustituir el calcio o el fosfato en el interior del cristal o llenar los huecos en el cristal. Por lo tanto, está claro que la bioapatita del esmalte no es apatita pura, sino que habitualmente contiene CO_3^{2-} , Na^+ , Mg^{2+} , F^- , Sr^{2+} , Cl^- y otros iones. La gran cantidad de sustituciones en la malla cristalina hace que la apatita del esmalte se desvíe de la estequiometría de la apatita pura con respecto a las proporciones Ca/P. Además, los cristales de esmalte tienen muchos defectos y son deficientes en iones calcio e hidroxilo. Estos huecos y el aumento en la desviación de la estequiometría, tienden a incrementar la solubilidad del esmalte.

La incorporación de fluoruro dentro de la malla apatita tiene implicancias importantes. El reemplazo de los grupos hidroxilo por iones fluoruro, que son más pequeños, resulta en la formación de fluorapatitas y provoca una disminución en la dimensión de la unidad celular y ejerce

varios efectos en las propiedades físicas y químicas de los cristales. La fluorapatita pura tiene una concentración de fluoruro de 38 ppm, mientras que el esmalte superficial (los primeros 10 μm) obtenido de personas residentes en áreas fluoruradas, pueden contener 3- 4 ppm de fluoruro. Es aparente que la ingestión de agua fluorurada resulta sólo en una sustitución limitada, alrededor del 10%, de iones fluoruro por iones hidroxilo. Aún esta sustitución limitada parece ser un factor probable en el marcado efecto cariostático.

En el esmalte de quien ingiere agua Fluorada se encuentra Apatita Fluorada (AF) cuyo comportamiento físico químico de solubilidad es el mismo de la Hidroxiapatita (HA). El Flúor dinámicamente importante es el que esta presente en la cavidad bucal constantemente, participando en los procesos de caries dental y actuando directamente en los fenómenos de desmineralización y remineralización.

De esta manera, el Flúor actúa mejor reduciendo la solubilidad del esmalte por simple acción dinámica en el medio líquido (fluido de la placa y esmalte).

Cuando el diente pierde Ca y P para el medio bucal, en función de la subsaturación en relación al producto de solubilidad de la HA, recibirá Ca, P y F del medio, por el hecho de que este se mantiene todavía, supersaturante en relación al producto de solubilidad de la FA, en definitiva tendremos un cambio de la pérdida de Ca y P en la forma de HA por la ganancia de Ca, P en forma de FA.

En términos líquidos esto ocurre cuando el F en la saliva es apenas 0.02 ppm (cuando se ingiere agua fluorada) provocando una reducción de la solubilidad del esmalte; por la acción en el proceso de desmineralización. Debe destacarse que cuando el PH baja, además del aumento de concentración de Flúor de la placa; debido a la solubilización de la forma ionizable aumenta también la proporción de HF que se distribuye en el interior del esmalte.

En la dinámica del proceso de la caries, cuando el PH tiende a retornar a la normalidad, después del proceso de desmineralización, la presencia de F en los fluidos de la placa y del esmalte activará el fenómeno de remineralización aumentando la eficiencia de la reposición de Ca y P perdidos por el proceso de desmineralización.

1. 2.2. EQUILIBRIO SISTÉMICO DEL FLUORURO.

A continuación damos las cifras de repartición del flúor en los órganos obtenidos por R: FABRE y S. BAZILLE (19) en el curso de intoxicaciones experimentales agudas y crónicas por fluoruro de sodio en el conejo. Considérese que se indujo intoxicación aguda en un conejo de 2,800 g. de peso administrándose 2,50 mg de fluoruro de sodio, y que en la inducción de intoxicación crónica con un animal del mismo peso se administró 11 mg. de fluoruro de sodio. Los valores encontrados por estos investigadores en mg por cada 100 gramos y con relación a la proporción en la sangre tomada como unidad respectivamente fueron:

Repartición del flúor en órganos de conejo con dosis diferentes de fluoruro de sodio (R. FABRE y S. BAZILLE 1977).

	mg/100g	sangre	mg/100g	sangre
Hígado	1.83	1.28	0.52	0.54
Riñones	1.65	1.15	0.51	0.56
Pulmones	2.53	1.77	0.29	0.30
Cerebro	1.66	1.15	0.42	0.44
Bazo	10.01	7.07	5.87	6.17
Huesos	13.60	10.50	23.30	35.0
Dientes	149.00	115.00	246.50	259.50
Bilis	6.03	4.64	8.00	8.41
Hipófisis	52.60	36.70	82.3	86.60
Suprarrenales	41.50	29.00	82.3	86.60
Genitales	0.63	0.44	0.33	0.35
Pelos	6.80	5.30	11.00	11.58
Orina vesical	1.53	1.07	1.00	105.00
Sangre	1.43	1.00	0.95	1.00

Se observa una mayor fijación en la glándula hipófisis; esta localización es interesante, si se recuerdan las lesiones de esta glándula endocrina observadas en el curso de las fluorosis.

Observamos que la acumulación al nivel de los tejidos dentarios y óseos, según H. CRISTIANI, es un signo de intoxicación muy precoz; este hecho es capital en el estudio de las fluorosis industriales, porque

permite descubrir la intoxicación desde sus comienzos, cuando todavía ningún síntoma hace indicar su existencia.

ELIMINACION

El efecto tóxico no comienza a manifestarse al cabo de cierto tiempo. Primero se fija en los tejidos calcificados; y sólo cuando la acumulación ha alcanzado una cierta proporción se pueden observar fenómenos de eliminación (8, 17, 19, 21, 23). Se ve entonces crecer la proporción de flúor en la orina, en las heces y en la bilis, que constituyen vías, de excreción del tóxico, a los que hay que añadir gracias a los procesos de descamación la epidermis y las faneras (uñas y pelos), donde se acumula parcialmente el flúor así como en la saliva y el sudor, que según A. CHARNOT (1937) eliminan una proporción notable del metaloide. Para el descubrimiento de intoxicaciones industriales se recomienda el examen de la orina (19, 21, 23).

FLUOR NORMAL

Para investigar el efecto toxicológico del flúor es esencial recordar que este metaloide en el estado de vestigios es un constituyente normal de la materia viva, tanto vegetal como animal. Al lado del hierro, cobre, zinc, manganeso, etc., es un oligoelemento cuya repartición ha dado origen a un gran número de investigaciones (40; 41, 42).

La presencia del flúor en los seres vivos es en todo caso fundamental desde el punto de vista toxicológico, porque, como en el caso de otros elementos tóxicos y en particular del arsénico, se trata de diferenciar bien entre el flúor normal o fisiológico y del flúor proveniente de una intoxicación (17, 19).

Los tejidos presentan proporciones de flúor particularmente elevadas; los tejidos óseos y dentarios cuyas proporciones referidas a las cenizas, en general están comprendidas al menos en los que se refiere a sujetos adultos entre 0.50 y 1.50 g. por Kg. en cuanto a los huesos y 0.19 y 0.30 g. por Kg. (19).

En los cabellos, la concentración de flúor varía según A. GAUTIER Y CLAUSMANN, entre 5.3 Y 15 mg/Kg. en estado fresco. En la sangre y en la orina las proporciones son normalmente próximas a 0.8 mg/litro (5, 13, 42).

Para terminar señalemos que este metaloide representa una considerable diferencia de acción según la concentración ya que los efectos favorables de dosis muy débiles sobre el tejido dentario dejan paso a efectos nocivos que pueden manifestarse graves en cuanto se aumentan un poco las cantidades absorbidas. Lo que caracteriza el caso del flúor es el margen extremadamente débil existente entre las dosis que ejercen una acción benéfica y las que ejercen una acción tóxica, de aquí la importancia del control analítico de técnicas tales como la fluoruración

del agua y la sal que se práctica en los países desarrollados (2, 7, 12, 41, 47).

1.2.3 EFECTOS DEL FLUORURO EN EL METABOLISMO.

SINTOMAS

■ Intoxicaciones agudas:

Los primeros síntomas sobrevienen en general de 5 a 6 horas después de la ingestión y son de orden digestivo: náuseas, vómitos con signos de hematemesis, dolores abdominales, diarreas, etc. (1).

Después aparecen signos neuromusculares; agitación, espasmos clónicos, y tónicos, más a menudo generalizados, a veces localizados; posteriormente suceden parálisis musculares habitualmente localizadas, paralelamente, se nota ptialismo y sudores abundantes que añadido a la diarrea, provocan deshidratación y sed intensa (1, 3, 4, 24).

Como consecuencia de la hipocoagulabilidad sanguínea, se producen hemorragias difusas, especialmente, al nivel del cerebro, pulmón, riñón, y también de las uñas que se ponen violáceas (24, 26, 31, 33).

Por último aparece una depresión progresiva del sistema nervioso central, que entraña un estado de prostración; la muerte sobreviene por parálisis del centro respiratorio y paro cardíaco en diástole (38, 48).

■ Intoxicaciones crónicas.

Los signos principales de la fluorosis resultan del ataque de los tejidos dentarios y óseos que, merced a sus elevados contenidos de fosfatos y calcio, fijan selectivamente muy importantes y, en particular, la caquexia fluórica, que se acompañan con alteraciones de diversos parénquimas nobles (12, 19, 23, 25).

Las alteraciones dentales que aparecen en primer lugar no se observan más que en los dientes en vías de formación; se traducen clínicamente por la aparición de manchas moteadas amarillentas, parduscas o negras, en el esmalte o "mottled enamel" según la literatura anglosajona, es menos resistente y que en consecuencia se gasta rápidamente (21, 22, 24).

Los roedores, particularmente la rata constituyen un material de elección para el estudio de tales alteraciones porque en ellos los incisivos crecen de manera continua a partir de la pulpa dentaria persistente. Su dentición es por tanto sensible siempre a la intoxicación fluorada (4, 8, 13).

Las alteraciones del tejido óseo pueden manifestarse según las condiciones de la intoxicación y la naturaleza de los derivados fluorados en cuestión, en dos sentidos muy distintos (R. TRUHAUT).

1) **Hipercalcificación:** que entraña una densificación e incluso a veces una marmolización general del esqueleto (esqueleto de marfil) se trata entonces de la osteopetrosis llamada a veces osteoesclerosis, causada sobretudo por el fluoruro de calcio. El hueso pierde su flexibilidad y se pone quebradizo, por ello, en las regiones de Darmous, los asnos y los borregos presentan a menudo fracturas múltiples de las costillas a consecuencia de los golpes recibidos de sus conductores (10, 11, 25).

2) **Descalcificación del sistema óseo:** que entraña la osteoporosis. Los huesos se ponen porosos y friables y en consecuencia da lugar a la producción de fracturas espontáneas. El calcio liberado impregna los tejidos conjuntivos próximos y produce formaciones óseas anárquicas. El resultado de ello son fenómenos dolorosos con trastornos de la marcha que se hace penosa y se acompaña de cojera (6, 7, 9, 17).

Esta osteoporosis causada sobre todo por los derivados fluorados solubles, se observa en los bóvidos alimentados en los pastos vecinos a fábricas de aluminio de los valles alpestres.

Observemos que los tipos de alteraciones del tejido óseo aún cuando parezcan opuestos, se encuentran frecuentemente asociados y no son en el fondo más que manifestaciones diferentes de un mismo factor causal; un trastorno profundo del metabolismo fosfocálcico.

La caquexia fluórica se caracteriza por lo siguiente: los animales comienzan por perder el apetito, disminuyen de peso, entran en un estado de sopor casi continuo y finalmente se ponen caquéxicos y mueren si no se los transporta a otra región (17, 19, 23, 33).

Estos diversos signos han sido individualizados por H. CRISTIANI quién los ha reproducido experimentalmente. Este autor subraya como en el caso de las alteraciones dentarias y óseas, el período de latencia es necesario para su aparición.

SIGNOS DIVERSOS:

Hay que subrayar además una sequedad y una rigurosidad particular de la epidermis, trastornos frecuentes de la reproducción y, a veces, en el plano histológico lesiones de degeneración al nivel del riñon y del hígado, así como alteraciones de las glándulas endocrinas en particular de la hipófisis, de las suprarrenales, de las tiroides y las paratiroides (34, 36, 39).

El hombre parece ser particularmente sensible a la acción nociva del flúor, los niños son particularmente receptivos. Las lesiones del esmalte manchado, por lo demás, no aparecen poder producirse si el flúor se ingiere después de la aparición de la dentadura de sustitución.

TRATAMIENTO.

1) Intoxicaciones agudas: se efectuará un lavado de estómago con una solución de 1/100 aprox. de sal de calcio soluble, de forma que se precipite el flúor en estado de fluoruro de calcio insoluble; para este efecto se puede usar también la solución azucarada de cal. Basándose en el mismo principio se administrarán sales de calcio solubles o mejor por vía intravenosa (lactato o gluconato: 2 a 4 gramos por dosis, y repetir de 4 a 6 veces en 24 horas). Además, se dará tratamiento sintomático que sostenga el corazón a restablecer la respiración (oxígeno o carbogenoterapia) y a rehidratar al intoxicado (solución salina o glucosada por gota a gota intravenosa) (19, 39, 40).

2) Intoxicaciones crónicas: se tratará de restablecer un metabolismo cálcico correcto mediante la administración de fosfato de calcio y se tratará de eliminar el flúor del organismo. A este objeto se ha intentado solubilizarlo en estado de fluoruro de aluminio mediante la administración de sulfato de aluminio; se observa efectivamente un aumento del flúor urinario bajo la influencia de esta medicación (19, 25, 33).

1. 2.4 TOXICOLOGÍA DEL FLÚOR.

1. 2.4.1 Etiología de las intoxicaciones.

El ión flúor ejerce su acción tóxica por múltiples mecanismos. Actúa sobre todo precipitando el calcio, elemento esencial de varias

funciones fisiológicas, en particular las de los tejidos nerviosos y muscular, e inhibe, gracias a su poder complejante de cationes tales como el Fe^{3+} y el Mg^{2+} , numerosos sistemas enzimáticos entre los que hay que citar los fermentos glucolíticos y especialmente la fosfoenolpiruvasa, las fosfatasas y las esterasas en general, e incluso el sistema de la citocromoxidasa. Las dosis que pueden provocar accidentes graves, incluso la muerte son tanto más débiles cuanto más solubles sean los productos. Con el fluoruro o el fluorosilicato de sodio, una dosis del orden de un gramo, realmente absorbida, según ciertos autores sería susceptible de determinar la muerte de un adulto normal, pero la dosis mortal generalmente admitida es del orden de 2 a 3 g. (3, 5, 8, 10).

Desde el punto de vista de la toxicidad crónica, la propiedad fundamental del anión F^- es su afinidad con los fosfatos por una parte, con formación de fluoropatito $3 \text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 + \text{CaF}_2$ y por el calcio por otra parte, con formación de fluoruro de calcio (CaF_2) poco soluble, lo que condiciona no solamente su larga retención en el organismo, sino también la orientación de su nocividad hacia los tejidos dentales y óseos.

Debido a ello, la dosis máxima tolerable para una ingestión diaria, prolongada por mucho tiempo, es relativamente débil. En el caso de las atmósferas industriales, el máximo de concentración tolerable generalmente admitido para los polvos de los fluoruros es de 2.5 mg/m³ (11, 14, 15).

1.2.4.2 Propiedades de los fluoruros y fluorosilicatos que interesan a la toxicología.

Los fluoruros contrariamente a los demás halogenuros forman con los cationes alcalinoterrosos sales pocos solubles, lo que puede servir para su concentración. En cambio, no precipitan las sales de plata solubles, calentados en una cápsula de platino con 1 ó 2 volúmenes de ácido sulfúrico concentrado, los fluoruros desprenden ácido fluorhídrico que deslustra una lámina de vidrio colocada encima de la zona de desprendimiento de los vapores ácidos. Si la lámina de vidrio está recubierta de cera de abeja salvo en ciertos puntos, el ataque se manifiesta en los puntos no protegidos (15, 18, 19, 22).

Calentados con ácido sulfúrico y sílice los fluoruros dan fluoruro de silicio, que por acción del agua, produce un precipitado de sílice gelatinoso y ácido hidroflosílico: si se trata de un fluorosilicato la sola acción del ácido sulfúrico dará fluoruro de silicio, descompuesto por acción del agua (19, 24, 31).

El anión F tiende a complejar numerosos cationes en particular Fe $3+$ y sobretodo Zr $4+$. Esta propiedad es la base de la reacción coloreada indicada en 1924 por De Boer reacción que se funda en los 2 principios siguientes:

Los iones Zr $4+$ con el alizarinosulfonato dan sodio, como por supuesto con todos los derivados antraquinónicos que poseen 2 OH

fenólicos en 1.2. una coloración rojo violeta, estable en medio francamente clorhídrico (32,44).

Esta coloración se destruye en solución ácida por los iones F^- que forman con el zirconio un complejo muy estable y que liberan ácido alazarinosulfónico amarillo (44,45,47).

Esta reacción sumamente sensible permite determinar colorimétricamente o fotométricamente cantidades de flúor. Por tanto es de hecho aplicable en toxicología.

La microvaloración de anión F^- puede efectuarse también volumétricamente. Esta microvaloración se hace más sensible operando en presencia de SPADNS indicador resultante de la copulación del diazo del a. p. sulfanílico con la sal de sodio del a. cromotrópico (a. dihidroxi 1.8 disulfónico 3.6) que vira del rojo al violeta bajo la influencia de vestigios de torio (FABRE, THUHAUT y BERNUCHON) (9,33, 45,47)

1. 2.4.3 Toxicidad Aguda y Crónica por Fluoruros.

INTOXICACIONES AGUDAS

Son provocados por los derivados fluorados dejando aparte las producidas por el ácido fluorhídrico pueden resultar como consecuencia del empleo de los derivados minerales del flúor, en particular de los fluoruros y silicatos (12,14,25,36), como son los siguientes:

- a) Como consecuencia en diversas metalurgias, como la del aluminio.

- b) Como antisépticos para la desinfección de pieles y cueros, la conservación de colas a base de caseína, etc.
- c) Como insecticidas de absorción contra insectos y parásitos de la vid, de los árboles frutales y de los cultivos hortícolas (fluorosilicato de sodio) y a veces contra las termitas (fluoruros y fluorosilicatos)
- d) Como raticidas, en forma de fluorosilicatos de sodio o de bario.
- e) Como fungicidas, contra los hongos lignícolas (conservación de bosques).
- f) Como medio de prevención de la caries dental. En ciertos países se añaden para este efecto fluoruros o silicatos alcalinos a las aguas de alimentación muy pobres en flúor (proporción óptima 1mg/l).

El monofluoruro difosfato sódico es la forma más común usada en dentífricos. El fluoruro en la molécula MFP está covalentemente enlazada al fósforo. La liberación de flúor, desde la molécula de MFP , ocurre principalmente como resultado de la acción de varias fosfatasas, de las cuales existe limitada actividad en la mucosa gástrica. Además cuando el MFP es ingerido, sólo mínimas concentraciones de fluoruro iónico son disponibles para irritar la mucosa del estómago, comparada con el fluoruro de sodio (WITHFORD 1983). Debido a su potencial

mínimo de causar irritación gástrica, los investigadores europeos están evaluando la eficacia del MFP en el tratamiento de la osteoporosis.

Existen estudios que revelan que el MFP es casi la mitad de tóxico que el fluoruro de sodio. En sus estudios con ratas, SHOURIE (1950) reportó valores orales LD50 de 24 horas valores de 75 a 36 mgF/Kg. respectivamente. LIM (1978) reportó valores de 94 y 44 mgF/Kg. respectivamente en ratones. Basados extensamente en estos hallazgos, la Asociación Dental Americana, sugiere incrementar los límites del total del nivel de fluoruros por encima del nivel previo de 260 mg por paquete unitario de dentífricos conteniendo MFP (42,43,48).

En 1987 WITHFORD reporta en forma abstracta que no existe diferencias entre el MFP y el fluoruro de sodio con respecto a la dosis agudas LD50 en ratas. Los resultados completos de este estudio fueron publicados más recientemente (1990). Subsecuentemente investigadores de la ADA confirmaron estos hallazgos en ratas y ratones (GRUNINGER 1988). La explicación de la disparidad de estos resultados no es clara: aunque pueden contribuir cualquiera de las variaciones conocidas que afectan la susceptibilidad de la toxicidad aguda del flúor. Se concluye que "... las organizaciones profesionales y las agencias regulatorias no deberían apoyar la política de añadir grandes cantidades de flúor, como el MFP a los productos dentales basados en el concepto de que el

fluoruro en la forma de MFP, es menos peligroso que en la forma de NaF" (16,44)

INTOXICACIONES CRONICAS

Son provocadas por la absorción repetidas de pequeñas dosis de derivados fluorados, se conocen con el nombre de fluorosis. Se refieren en general al consumo de aguas relativamente ricas en flúor (concentración superior a 2 mg, 2.5 mg por lt).

Un caso muy interesante es el de Islandia, en el que intervienen los compuestos fluorados (ácido fluorhídrico, fluoruro de silicio, fluosilicatos diversos, etc.) depositados en los vegetales por las erupciones volcánicas. Así mismo, hay que mencionar el caso del Africa del Norte, donde el aporte en los vegetales de polvos de fosfatos naturales ricos en fluoruro de calcio (2 a 5 por 100) del que resulta una afección, conocida por el nombre de "Darmous", hace estragos tanto entre los indígenas como en los bovinos, óvinos, équidos, etc.

Al lado de la fluorosis de origen geológico o telúrico, hay otras de origen industrial; que se derivan entre otras causas de las siguientes:

- a) Empleo de derivados fluorados y en particular de fluoruros de fundentes en diversas metalurgias (aluminio, berilio, magnesio, etc.) o para la fabricación de ciertos materiales (esmaltes, cristales, ladrillos, cementos, etc.)

- b) Tratamientos sufridos por ciertos minerales conteniendo flúor como impurezas: transformación por ejemplo de los fosfatos de calcio naturales en superfosfatos por la acción del ácido sulfúrico (desprendimientos de HF y F₄S₁).
- c) Utilización como fuente de energía calorífica de combustibles y en particular de carbones conteniendo proporciones relativamente elevadas de flúor.

En todos estos casos si no se toman medidas convenientes en obra, pueden contaminarse los vegetales que crezcan en las proximidades de las fábricas con polvos o humos conteniendo flúor y en consecuencia existen riesgos de intoxicación para los seres humanos y los rebaños que vivan en las cercanías de tales instalaciones industriales.

TOXICIDAD CRÓNICA: el único efecto adverso conocido asociado a la ingesta de niveles relativamente bajos de fluoruros (1-2 ppm en el agua de beber) sobre una base crónica es la fluorosis dental. (DEN BESTEN y THARIANI 1992). Los signos de la fluorosis esquelética pueden aparecer con altos niveles de ingesta de flúor (8-10 ppm o mg en el agua potable) por un tiempo de 10 años a más. Es de interés notar que la fluorosis esquelética nunca ha sido un tema de salud pública en los EEUU aún en las comunidades que tienen altos niveles de flúor en

el agua potable por diversas generaciones. Esto ha permitido establecer que factores predisponentes especialmente deficiencias dietéticas o diferencias poblacionales en el metabolismo del flúor están involucradas en áreas en donde se encuentra tal desorden (WITHFORD 1989) (13, 19, 33, 41).

En Abril de 1990 el Programa Nacional de Toxicología (NTP), estudió, durante 24 meses, la posible relación entre el flúor y cáncer utilizando una muestra de ratas y ratones. El reporte fue revisado por medio de un panel de expertos, los cuales concluyeron que hubo evidencia equivocada de carcinogenicidad, lo cual significa que los resultados permiten la interpretación de que un incremento marginal de neoplasmas podrían ser químicamente relacionados. La conclusión estuvo basada en la aparición de osteosarcoma entre ratas machos (F334/N) en las que pareció haber una manera de respuesta a la dosis. Hubo 4 grupos en el estudio NTP que difirieron de acuerdo a la concentración de flúor (fluoruro de sodio) del agua bebida: 0, 11, 45 y 79 ppm. Una rata macho en el grupo de 45 ppm y 3 en el de 79 ppm desarrollo osteosarcomas de hueso. Una rata macho en el grupo de alta dosis tuvo un osteosarcoma extraesquelética que no se origino en el hueso. No hubo tales tumores en ratas hembras ni en ratones hembras ni machos. La tendencia de respuesta a la dosis fue estadísticamente significativa pero la comparación de la incidencia en el grupo de alta dosis y el grupo control no lo fue, debido a que un elemento químico debe,

inequívocamente, causar cáncer por lo menos en 2 especies para ser clasificada como un carcinógeno no incluye al fluoruro.

Estimulado por los resultados obtenidos por el NTP el Instituto de Cáncer Nacional (INA) condujo, subsecuentemente, un análisis masivo de la relación entre la mortalidad causada por todos los tipos de cáncer y el estado de fluoruración de todas las ciudades en USA. En su reporte al director del INA, los investigadores concluyeron: "En un estudio de más de 2'300.000 de casos de muerte por cáncer en ciudades "fluoruradas" de los EEUU y más de 125.000 casos de incidencia de cáncer en ciudades fluoruradas cubiertas por 2 registros de cáncer basados en la población, no identificamos ninguna tendencia en el riesgo de cáncer que pudiera ser atribuida al consumo de agua potable fluorurada" (SPHS Comité ad del flúor, 1991). En conclusión, podría establecerse que aparte de la fluorosis dental, no existen efectos adversos conocidos de ingesta de flúor en una base crónica a niveles que estén asociados con concentraciones de agua potable de 4 ppm o menos. Estos niveles de ingesta podrían incluir fluoruro no sólo en el agua sino también en la dieta y en los productos dentales que contienen flúor. Dos nuevos reportes sugieren una posible relación relativa entre bajos niveles de ingesta de flúor y la incidencia de fracturas óseas que indican una mayor necesidad de investigación.

Por último, las aplicaciones basadas en las propiedades antisépticas de los derivados fluorados, especialmente las aplicaciones en el terreno alimenticio (fabricación de cerveza, conservación de la mantequilla de la leche condensada, del vino, etc) no dejan de carecer de riesgo, la mayor parte de las legislaciones del mundo, prohíben la utilización de los compuestos fluorados como agentes de conservación de los alimentos.

Igualmente, conviene controlar rigurosamente la adición de derivados fluorados a las aguas a fines de prevención de caries dental, la proporción que no debe sobrepasarse es de 1.5 mg por litro. Desde hace algunos años se preconiza además la fluoración de las aguas (tratamiento con flúor) para sustituir a la esterilización con lejía. Las dosis utilizadas no deben sobrepasar a 1 mg de metaloide por litro (19,23,44)

1. 2.4.4. Microdeterminación en Medios Biológicos

Existen varios fluidos y tejidos que pueden ser utilizados para determinar la cantidad de fluoruros. Se les denomina biomarcadores y pueden encontrarse en las distintas partes del cuerpo, algunos de ellos son fácilmente accesibles y útiles para determinar la presente disponibilidad de fluoruro.

Un biomarcador de fluoruros es el valor primario utilizado para identificar y monitorear deficiencia o ingestas excesivas de fluoruros biológicamente disponibles. El conocimiento de la disponibilidad de

fluoruros durante los periodos pre-eruptivos de la formación dentaria permitan evaluar el potencial para el desarrollo de una fluorosis posterior; mientras que el conocimiento de su disponibilidad posteruptiva provee una guía para el nivel potencial de protección de caries dental. Los biomarcadores de fluoruros pueden servir también para evaluar el impacto de la fluorización del agua utilizando la calidad ósea y otras condiciones fisiológicas.

MARCADORES CONTEMPORÁNEOS: ORINA, PLASMA Y SALIVA

Los valores obtenidos no son medición directa de la acumulación de fluoruros en el cuerpo, pero, son indicativos de la fisiología metabólica del flúor por una relación definida incompleta entre la concentración de fluoruros de hueso y en los fluidos extracelulares. Estos fluidos incluyen la orina, el plasma y la saliva total. (33, 35, 38)

El flúor presente en la saliva se relaciona con la concentración en el plasma por un factor de 0.8 . Las características que se pueden determinar en los exámenes del plasma sanguíneo son:

- **Hemograma** : anemia normocrónica y normocitaria por ocupación medular (osteomieloesclerosis) en la intoxicación crónica de flúor.

- **Química hemática:** hipocalcemia marcada en la intoxicación aguda e hipercalcemia inconstante en la crónica, acompañada esta última de hipofosfatemia en una parte de los casos.

La excreción de flúor por la orina, así como las concentraciones de flúor en el plasma están relacionadas, pero son más variables que las encontradas en la saliva total por la variación del flujo urinario y el Ph.

La eliminación aumentada de flúor indica sólo un exagerado ingreso o movilización del retenido en exceso, pero no guarda relación con la tolerancia del individuo frente al tóxico.

MARCADORES RECIENTES: UÑAS Y PELO

Las concentraciones de flúor en uñas y pelos parecen ser proporcionales a la ingesta a través de grandes periodos de tiempo. La importancia que en ellos tienen, es que sus concentraciones reflejan la concentración promedio de flúor en el plasma a través del tiempo. Las uñas crecen aproximadamente 0.1 mm por día, por eso el nivel promedio de ingesta de flúor a través de un periodo de 1 a 3 semanas puede ser estimado. El flúor en pelo puede ser utilizado para estimar ingesta a través de periodos más largos. Los refinamientos de los métodos de muestreo para estos tejidos humanos y mejoramiento de la tecnología son necesarios. Investigaciones adicionales pueden clarificar sobre los

factores fisiológicos que influyen sobre la captación y acumulación en esos tejidos (23,24,35)

MARCADORES HISTÓRICOS: HUESO Y DIENTES

El peso de flúor en el cuerpo está mejor reflejado en los tejidos calcificados. Aunque el esmalte no es el tejido de elección, debido a que la mayor parte de su flúor ha sido captado durante la erupción del diente. En la etapa post eruptiva, la exposición a concentraciones fluctuantes de flúor, en la cavidad bucal, afecta significativamente los niveles de flúor en las capas superficiales del esmalte, donde se encuentran las concentraciones más altas de flúor (16,26,27).

Las concentraciones de flúor en el hueso son mejores indicadores de exposición al flúor de largo término y de peso en el cuerpo. Aunque el flúor no está uniformemente distribuido a través del hueso, por ejemplo, al hueso medular tiene concentraciones más altas de flúor en comparación con el hueso cortical (11,20,30,34)

Las concentraciones de flúor en dentina son similares a las del hueso y, como en el hueso, ellos tienden a incrementarse a través de los años cuando la ingesta de flúor es constante. La dentina, especialmente la coronal, puede ser el mejor marcador para estimar la ingesta crónica de flúor y el indicador más apropiado para determinar el peso de flúor en el cuerpo, debido a que rara vez sufre resorción (1,4,5,8)

La dentina acumula continua y lentamente flúor a través de la vida y esto es permitido gracias al fluido extracelular, además está protegida de la exposición al flúor (fluorosis) por la cubierta de esmalte o cemento.

LA FLUOROSIS COMO UN BIOMARCADOR

Estudios epidemiológicos realizados por DEAN et al. desde los años 30, demostraron claramente la relación dental en los seres humanos y el nivel de flúor en las fuentes de agua (11). Estos y otros estudios han demostrado que en la población existe una relación directa entre el grado de fluorosis y el nivel de flúor en el plasma y el hueso. Por otro lado, estos estudios sugieren que la fluorosis puede ser utilizada como un biomarcador de la exposición a flúor. Aunque la fluorosis dental es un reflejo de la exposición al flúor solamente durante la formación del esmalte. Por ejemplo, un nivel incrementado de fluorosis ha sido utilizado para indicar el incremento de la exposición flúor en dos comunidades, a pesar de los niveles constantes de flúor en el agua de beber. La exposición incrementada de flúor fue reportado aparte de los resultados de la ingesta no intencional de flúor tópico, subrayando el valor de la fluorosis como un biomarcador.

DEAN(11) llegó a las siguientes conclusiones:

- 1.- La exposición reciente total a flúor en individuos o poblaciones es más confiablemente controlada por la evaluación de los niveles de flúor

en el plasma o en marcadores disponibles por métodos no incisivos, preferiblemente orina o saliva ductal.

2.- La fluorosis dental clínica es el biomarcador más conveniente; pero está, solamente registra los efectos de la ingesta de fluoruros en los primeros 6 años de vida.

3.- Los tejidos dentales duros son biomarcadores confiables para el monitoreo de largo término de ingesta flúor durante periodos definidos de la vida, donde el hueso provee información de la exposición a través de décadas.

4.- Las concentraciones de flúor en pelo y uñas como biomarcadores potenciales para exposición durante las semanas recientes merece mayor investigación.

CAPITULO II

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

2.1. AREA PROBLEMA.

El uso del flúor en la odontología ha conseguido efectos benéficos en la prevención y el tratamiento de la caries dental; así como toda una corriente de investigación que esta permanentemente descubriendo los nuevos beneficios que puede brindarnos y los perjuicios que implica su uso incorrecto. En este último punto, la literatura científica se ha ocupado ampliamente sobre los efectos tóxicos que puede presentarse con el consumo del agua y de sal fluoradas. Esto ha motivado a la inclusión de nuevos compuestos como el hexafluorosilicato de magnesio; sin embargo, no se han realizado estudios sobre su toxicidad desconociéndose el grado de toxicidad que puede tener.

2.2. DELIMITACIÓN Y DEFINICIÓN DEL PROBLEMA

En el presente estudio se investiga los rangos de toxicidad aguda y dosis letal de hexafluorosilicato de magnesio en la dieta de animales (ratas) de experimentación. Para efectos del estudio formulamos el siguiente problema.

¿Cuáles son los signos clínicos y cambios histológicos en ratas de laboratorio producidos por intoxicación aguda con hexafluorosilicato de Magnesio presente en la dieta en dosis de 2.5 mg/lit a 30 mg/lit?

2.3 OBJETIVOS

2.3.1 GENERAL

Evaluar la signos clínicos y cambios histológicos en ratas albinas por intoxicación aguda experimental con diferentes dosis de hexafluorosilicato de magnesio administradas en la dieta.

2.3.2 ESPECÍFICOS

- a) Determinar las concentraciones no tóxicas y las probabilidades de intoxicación del hexafluorosilicato de Magnesio en la dieta .
- b) Determinar los signos que se presentan en la intoxicación aguda por hexafluorosilicato de Magnesio.
- c) Determinar los cambios histológicos que se presentan por la intoxicación aguda provocado por el hexafluorosilicato de magnesio.
- d) Determinar la relación entre el incremento de la dosis y el grado de severidad de los signos y cambios histológicos producidos por intoxicación aguda con hexafluorosilicato de magnesio.

2.4. HIPOTESIS

H1: El rango de dosis tóxica aguda de hexafluorosilicato de Magnesio que evidencia signos y síntomas clásicos de la intoxicación aguda se encuentra entre los 20 y 30 mg/Kg. de peso para ratas de laboratorio.

H2: El rango de dosis tóxica aguda de hexafluorosilicato de Magnesio que ocasiona cambios histológicos en los órganos vitales de ratas de laboratorio está entre 5 mg /Kg. de peso y 7.5 mg/Kg . de peso.

H3: El incremento experimental de la dosis de hexafluorosilicato de magnesio produce mayor severidad de los signos clínicos y cambios histológicos en las ratas de laboratorio.

2.5. VARIABLES DE ESTUDIO

VARIABLE INDEPENDIENTE

- 1.- CONCENTRACION DEL HEXAFLUOROSILICATO DE MAGNESIO EN DIETA DE RATAS DE LABORATORIO

INDICADOR

- MILIGRAMOS DE Mg Si F₆, 6H₂O POR LITRO DE AGUA (mg/lit)

VARIABLES DEPENDIENTES

- 1.- SEMIOLOGIA CLINICA DE INTOXICACION AGUDA

INDICADORES

- DEPRESION, INTRANQUILIDAD, CHIRRIDO, VOMITO,
DIARREA Y MUERTE

2.-CAMBIOS HISTOLOGICOS

INDICADORES:

- CONGESTION VASCULAR, INFILTRADO LEUCOCITARIO
PERIVASCULAR.

CAPITULO III

MATERIALES Y METODOS

3.1. TIPO DE ESTUDIO

El estudio fue de tipo longitudinal, analítico y con carácter experimental. Es longitudinal porque los animales fueron estudiados minuciosamente durante un intervalo de tiempo determinado. Es analítico porque los resultados obtenidos en los grupos fueron comparados en relación a las dosis administradas. Presenta característica experimental

por cuanto se ha manipulado la variable independiente, se ha tenido un grupo control y se seleccionaron los individuos de la muestra al azar.

Este estudio fue realizado en las instalaciones del bioterio del Instituto de enfermedades tropicales de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

3.2 Muestra

3.2.1 Unidad de muestra

La unidad muestral la constituyó una rata macho de experimentación de rata Sprague Dowley Albina de 3 meses de edad y 250 gr. de peso promedio.

3.2.2 Unidad de análisis

La unidad de análisis estuvo constituida por los signos clínicos que presentó el animal debido a la intoxicación, y los cortes histológicos de hígado y mucosa gástrica de los animales en observación.

3.2.3. Tamaño de muestra:

La muestra estuvo constituida por 40 ratas de laboratorio distribuidas por igual en 6 grupos.

3.3. Diseño del estudio

3.3.1 Conformación de grupos

Cada grupo estuvo constituido por 5 animales machos. Se conformaron 7 grupos experimentales a los que se administraron las diferentes concentraciones de H6F02, y uno(1) constituyó el grupo control a quienes se les administró agua pura.

Se asignó un código a cada grupo que los identificó como grupo de experimentación y control, así como un sub código para cada animal.

GRUPO	DOSIS(mg/lit)
Control	0
A	2.5
B	5
C	10
D	15
E	20
F	25
G	30

3.3.2 Procedimientos de laboratorio

Preparación de la dieta: La dieta estuvo constituida por alimento balanceado para roedores.

Dosaje del fluoruro: El fluoruro se pesó en una balanza analítica de precisión marca METTLER, para luego ser agregado, en forma sólida, a un litro de agua en un depósito esterilizado. Se realizó un agitado intenso durante 5 minutos buscando la distribución y homogenización del fluoruro en el solvente, luego se realizó la distribución equitativa de la solución consistente en 250 ml para cada animal.

3.3.3. Procedimientos experimentales.

- Preparación de las soluciones
- Preparación del animal (alimentación normal ,sin líquido para provocar la sed durante 48 hrs.)
- Registro del inicio de consumo de agua.
- Control clínico periódico (signos clínicos) anotación de ocurrencias.
- Sacrificio o autopsia de los animales y obtención de órganos para la evaluación histológica.

3.3.4 Criterios de evaluación del proceso.

El proceso fue controlado por un cronómetro de precisión bajo un esquema estandarizado (cuaderno experimental o instrumento de recolección de datos) y que registro los momentos y las ocurrencias respectivas.

3.4 Estudio piloto

Se realizó un pilotaje con 5 animales con la finalidad se monitorear mejor todo el proceso experimental y realizar las modificaciones del formulario de recolección de datos .

Los objetivos fueron son:

- Estandarización y calibración en la preparación de las soluciones (dosaje de fluoruro, homogenizado, etc.)

- Estandarización o calibración en el manejo del proceso experimental.
- Estandarización o calibración de la evaluación clínica en el proceso experimental.
- Estandarización y calibración de la evaluación histopatológica.
- validación del cuaderno experimental y base computarizada (códigos, tablas matrices).

3.5. Plan de tabulación y análisis estadístico

Se organizó una base de datos computarizada en el paquete informático EPI INFO V.6.0 a partir del que se elaboraron las tablas, gráficos y análisis estadísticos respectivos:

- Tablas matrices
- Tablas de frecuencia simple.
- Gráficos de barras y sectoriales con Harvard Graphics.

Para el análisis estadístico se emplearon medidas Correlación de Pearson, Prueba de Chi cuadrado, Análisis de Varianza en dos direcciones de Kruskal Wallis. Las pruebas de hipótesis se realizaron con un nivel de significancia $\alpha = 0.05$ y $\alpha = 0.001$.

CAPITULO IV

RESULTADOS

Se ha observado el comportamiento clínico e histológico de ratas albinas con el propósito de evaluar la toxicidad aguda de soluciones de hexafluorosilicato de magnesio en concentraciones de 20 mgr., 25 mgr y 30 mgr. con registros cada 60 minutos. Se hallaron los siguientes resultados:

Con 20 mgr. Se observaron los siguientes signos clínicos: a la 1ra hora: 3 ratas (60 %) mostraron intranquilidad; desde la segunda a la quinta hora 3 ratas (60%) presentaron depresión y a la sexta hora 2 (50%) presentaron depresión.

Con 25 mgr. Se observó: a la primera hora 5 (100%) presentaron depresión, a la segunda hora 3 (60 %) con depresión, a la tercera hora 3 (60 %) presentaron chirrido, a la cuarta hora 2 (40 %) presentaron chirrido y vómito respectivamente, a la quinta hora 2 (40 %) presentaron vómito, y a la sexta hora 3 (60 %) murieron.

Con 30 mgr. Se observó: a la primera hora 5 (100 %) con depresión, a la segunda hora 4 (80 %) con chirrido, a la tercera hora: 2 (40 %) con chirrido y vómito respectivamente, a la cuarta hora 3 (60 %) murieron, a la quinta hora los 2(40%) restantes presentaron vómito, a la sexta hora murió 1 y la otra presentó vómito. Tabla N°1, Gráfico N°1, 2,3

TABLANº1

SIGNOS CLINICOS DE INTOXICACION AGUDA CON 20, 25 Y 30 mgr. DE HEXAFLUOROSILICATO DE MAGNESIO SEGÚN HORA DE EVALUACION

TIEMPO DOSIS mg/lt.	1 HORA			2 HORA			3 HORA			4 HORA			5 HORA			6 HORA		
SINT.	20	25	30	20	25	30	20	25	30	20	25	30	20	25	30	20	25	30
0 NORMAL	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1 INTRANQUILIDAD	3	0	0	2	0	0	2	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0
2 DEPRESIÓN	2	5	5	3	3	1	3	2	1	3	1	0	3	1	0	2	0	0
3 CHIRRIDO	0	0	0	0	2	4	0	3	2	0	2	1	0	1	0	1	1	0
4 VOMITO	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	2	1	0	2	2	0	1	1
5 DIARREA	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
6 MUERTE	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	3	0	0	0	0	3	1
TOTAL	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	4	5	2	4	5	2

GRAFICO N°1
SIGNOS CLINICOS DE INTOXICACION AGUDA CON 20 mgr.
HEXAFLUOROSILICATO DE MAGNESIO SEGUN HORA DE
EVALUACION

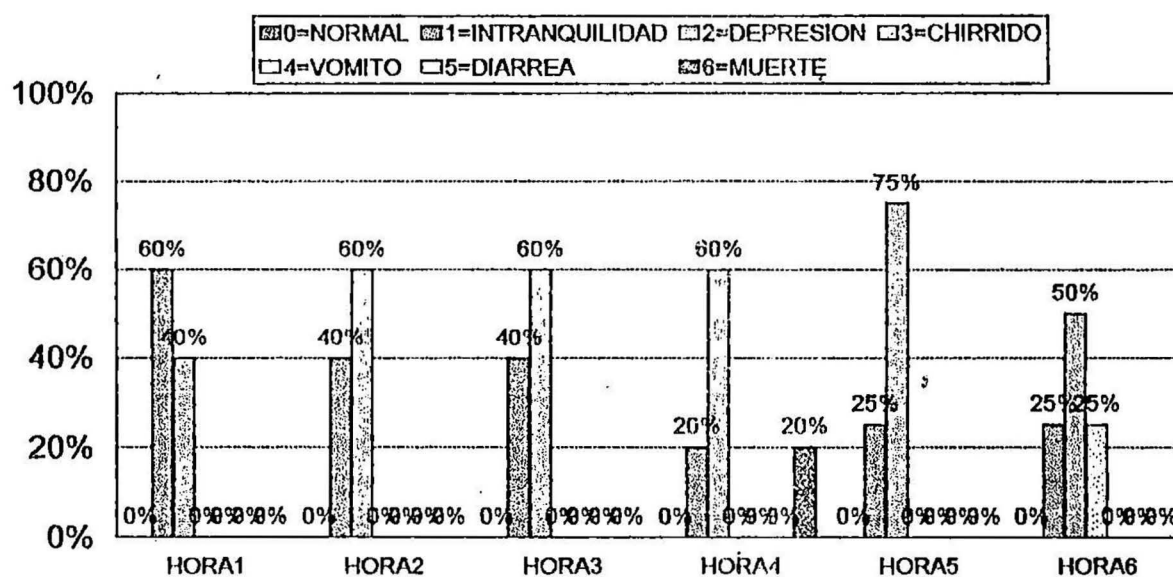


GRAFICO N°2
SIGNOS CLINICOS DE INTOXICACION AGUDA 25 mgr.
HEXAFLUOROSILICATO DE MAGNESIO SEGUN HORA DE
EVALUACION

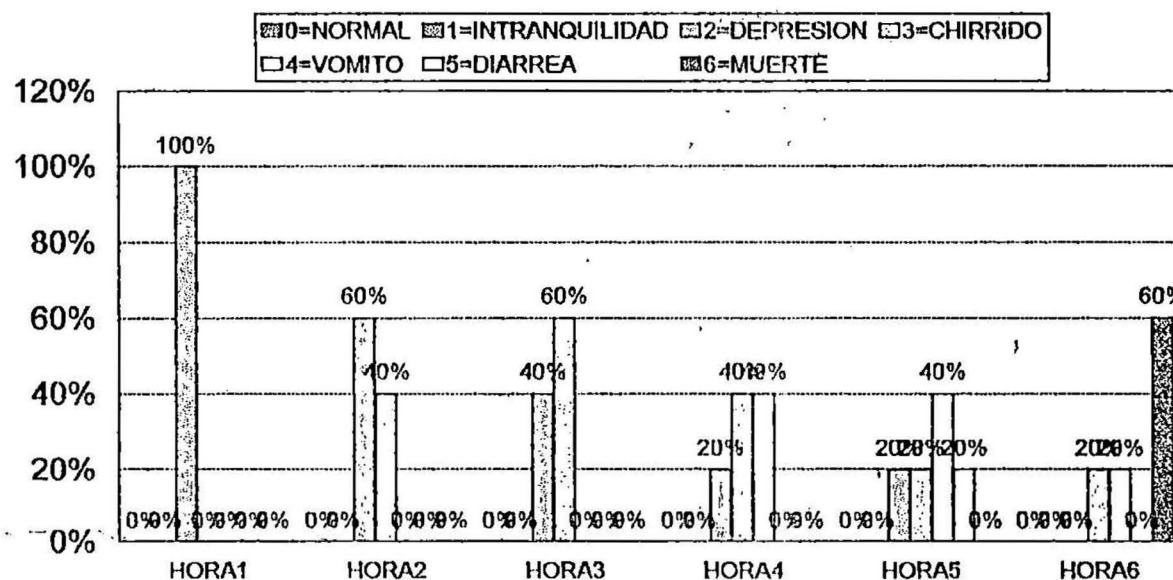
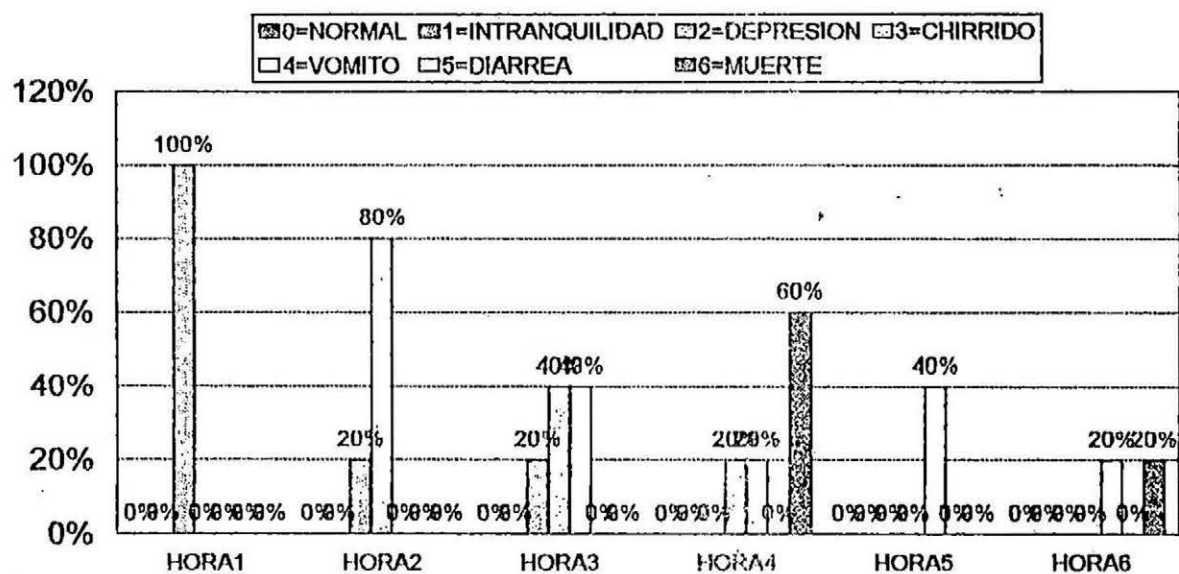


GRAFICO N°3
SIGNOS CLINICOS DE INTOXICACION AGUDA 30 mgr.
HEXAFLUOROSILICATO DE MAGNESIO SEGUN HORA DE
EVALUACION



En la tabla N°2 gráfico N°4 se observa que en dosis de 20 mgr. de hexafluorosilicato de Mg. el 57% de episodios observados en 6 horas corresponden a la depresión, el 36% a intranquilidad, y el 4% a chirrido. Con dosis de 25 mgr , el 40% corresponde a intranquilidad, el 30% a chirrido, el 17% a vómito, el 10% murió y el 3% corresponde a chirrido. Con 30 mgr. el 29% de los episodios correspondió a intranquilidad al igual que a depresión, el 25% a vómito y el 17% muere como consecuencia de la dosis.

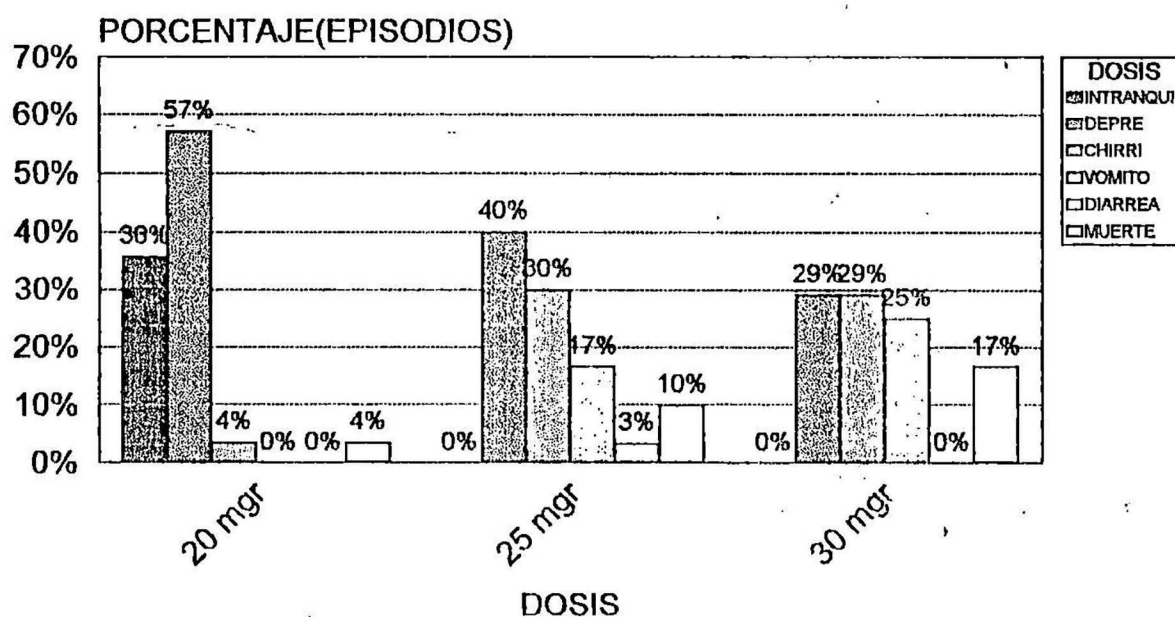
Como se aprecia la gravedad de la sintomatología se incrementa de acuerdo a la dosis del hexafluorosilicato de Mg. Para comprobar si las diferencias observadas fueron significativas se aplicó la prueba estadística no paramétrica del chi cuadrado (tabla 3x6) hallándose un

valor calculado de $\chi^2=38.181$ que es mayor que el valor de la tabla para 10 grados de libertad $\chi^2_T = 29,588$ al 99.9% de confianza, por lo que se decide aceptar la hipótesis de investigación y rechazar la hipótesis nula; concluyéndose que el incremento de la dosis agrava la sintomatología clínica de toxicidad aguda al hexafluorosilicato de Mg.

TABLA N°2
SIGNOS CLINICOS DE TOXICIDAD AGUDA AL
HEXAFLUOROSILICATO DE MAGNESIO SEGÚN DOSIS(*)

DOSIS SIGNO	20 mgr.		25 mgr.		30 mgr.	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
0 Normal	--	--	--	--	--	--
1 Intranquilidad	10	35.72	0	0	0	0
2 Depresión	16	57.14	12	40	7	29.16
3 Chirridos	1	3.57	9	30	7	29.16
4 Vómito	0	0	5	16.6	6	25
5 Diarrea	0	0	1	3.33	0	0
6 Muerte	1	3.57	3	10	4	16.6
TOTAL	28	100%	30	100%	24	100%

GRAFICO N°4
SIGNOS CLINICOS DE TOXICIDAD AGUDA AL
HEXAFLUOROSILICATO DE MAGNESIO SEGUN DOSIS(*)



(*)Referido al número de episodios en un mismo animal en 6 horas de observación.

Lo mencionado anteriormente se confirmó con la prueba de correlación de PEARSON calculada a través de la siguiente formula:

$$r = \frac{N \sum XY - (\sum X)(\sum Y)}{\sqrt{[N \sum X^2 - (\sum X)^2][N \sum Y^2 - (\sum Y)^2]}}$$

Donde:

r= Correlación de PEARSON

N= Número de observaciones impares.

Σ = Sumatoria

X= Puntajes para dosis de hexafluorosilicato.

Y= Valores de intervalo de sintomatología clínica intoxicación aguda.

Se hallaron los siguientes valores de correlación entre las dosis por cada hora de observación registrada:

Tiempo	CORRELACIÓN	SIGNIFICANCIA		Razón T
	®	t _c	X ²	T _{tab}
1 ^{ra} hora	0.90	3.53	P< 0.05	3.18
2 ^{da} hora	0.90	3.53	P< 0.05	3.18
3 ^{ra} hora	0.89	3.35	P< 0.05	3.18
4 ^{ta} hora	0.84	2.68	N.S.	3.18
5 ^{ta} hora	0.87	3.20	N.S.	3.18
6 ^{ta} hora	0.86	2.92	N.S.	3.18

Como se observa, en las tres primeras horas evaluadas, se hallaron significancias para las pruebas de correlación, por lo que se concluye que las correlaciones entre la dosis y la sintomatología de toxicidad aguda en las tres primeras horas son positivas y varían entre moderada y fuerte.

CAMBIOS HISTOLÓGICOS.

GRUPO CONTROL: DOSIS PLACEBO.

En todos los casos estudiados se encontró tejido hepático y mucosa gástrica con características normales. Fig. 1,2.

GRUPO EXPERIMENTAL I: DOSIS 2.5 -15 mgr/lt

En todos los casos se observaron características de normalidad con respecto a las variables congestión vascular e infiltrado leucocitario. Fig.3,4.

GRUPO EXPERIMENTAL DOSIS : 20 mg/lt.

En la primera lámina se aprecia 4 casos (80%) con características de normalidad, con parénquima hepático conservado, con capilares sinusoidales y vena central sin congestión, 1 caso (20%) presentó discreta congestión vascular a nivel de la vena central.

La segunda lámina presentó 3 casos (60%) con congestión vascular y 2 (40%) con características de normalidad. La tercera lámina presentó 4 (80%) con características normales y 1 (20%) con congestión vascular. La cuarta lámina presentó 3 (60%) con características normales y 2 (40%) con congestión vascular. La Quinta lámina presentó a todos los casos con características de normalidad.

Como se aprecia , con dosis de 20 mg/lt de hexafluorosilicato de magnesio, la mayoría de las láminas (72%) presentaron características de normalidad en el parénquima hepático y mucosa gástrica. Tablas N°3,N° 8. Graficos N°5,N°8. Fig 3,4.

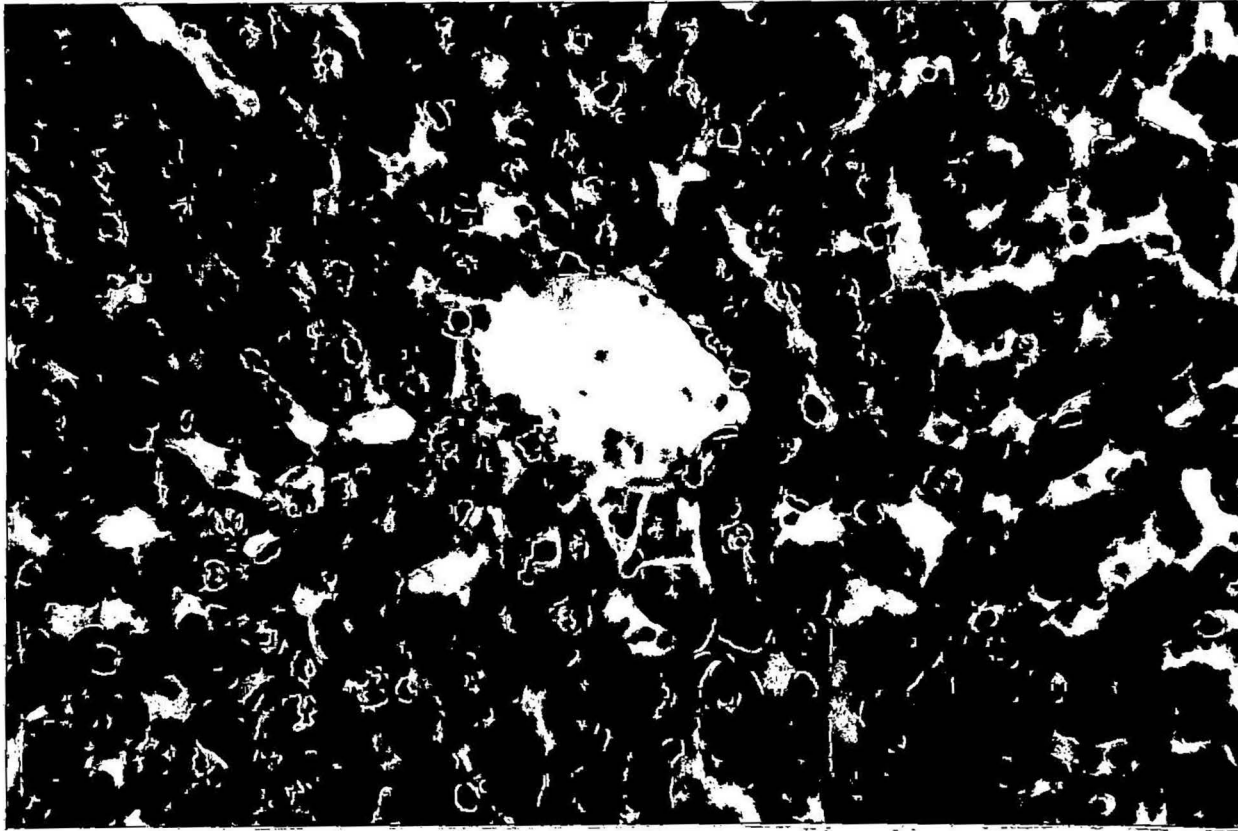


FIGURA Nº 1.

Microfotografía hepática de rata de grupo control con administración de agua sin dosificación de hexafluorosilicato de magnesio. Se observa el parénquima hepático conservado, capilares sinusoidales vacíos, hepatocitos normales, al igual que las células histiocitarias de Kupffer y vena central sin mostrar signos de congestión vascular.

Coloración H.E. Aumento 40X.

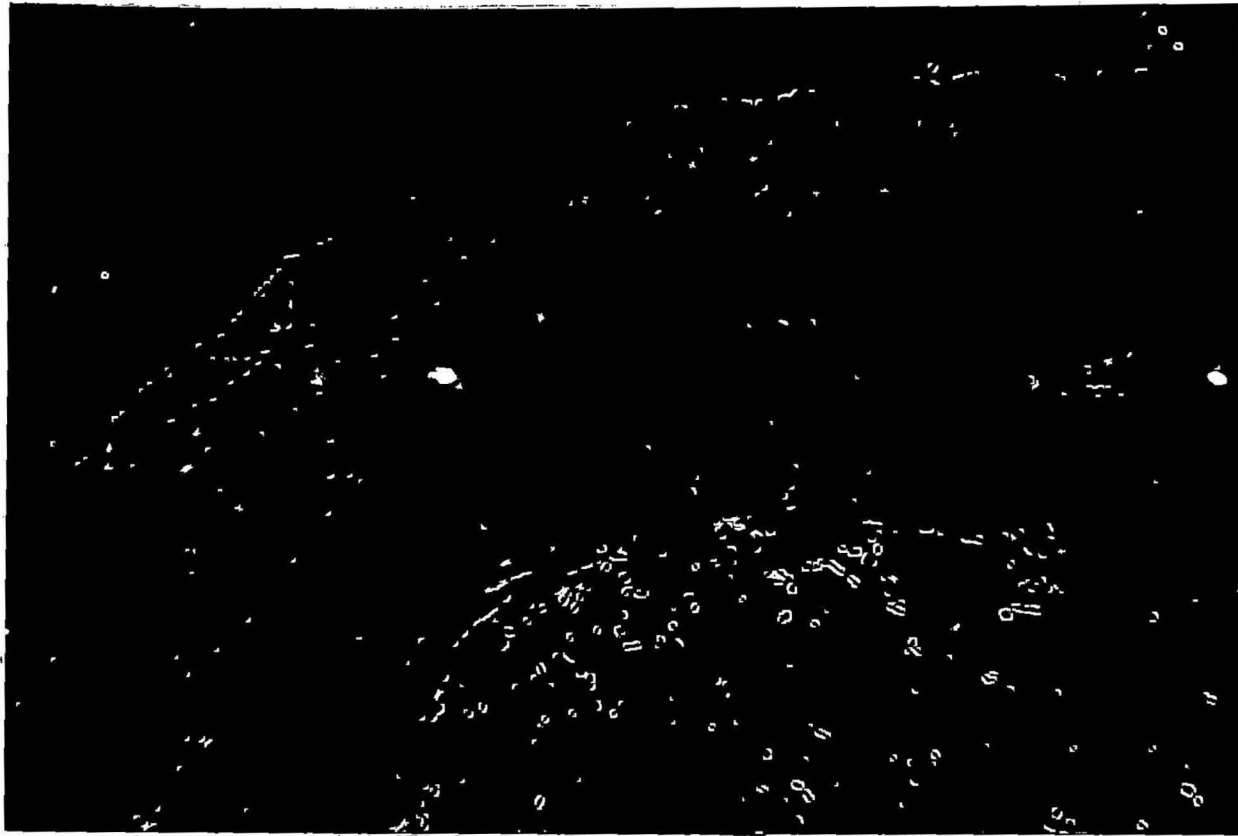


FIGURA N°2.

Microfotografía de mucosa gástrica de rata albina perteneciente al grupo control (agua corriente). Se observan mucosa, submucosa y la capa muscular con características normales: epitelio cilíndrico simple con células secretoras, en la lámina propia las glándulas gástricas y sus células correspondientes (células mucosas del cuello, parietales, neuroendocrinas y principales) se hallan rodeadas de tejido conectivo laxo donde también se aprecian plasmocitos.

Coloración H. E. Aumento panorámico.

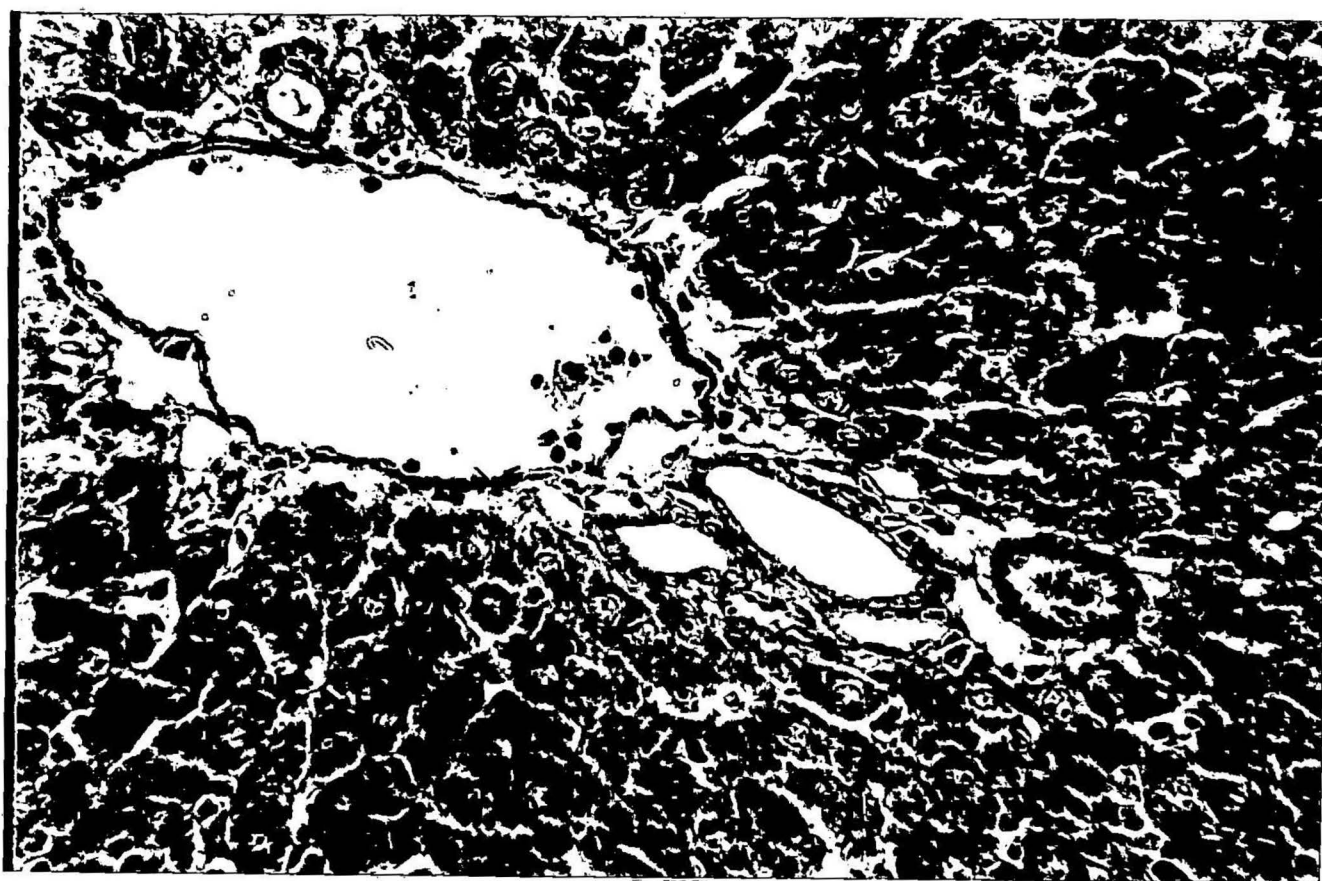


FIGURA N° 3.

Microfotografía de hígado de rata albina con dosis de 2.5 a 20 mgr. de hexafluorosilicato de magnesio por litro de agua. El corte realizado a nivel del espacio porta, presenta vasos portales con características normales, los hepatocitos muestran ligera tumefacción por lo que los capilares sinusoidales presentan estrechamiento de su diámetro.

Coloración H.E. Aumento 40X.



FIGURA N° 4.

Macrofotografía de mucosa gástrica de rata albina con dosis de 2.5 a 20 mgr/lit de hexafluorosilicato de magnesio . Se observa que la mucosa, submucosa , capa muscular y vasos sanguíneos presentan características de normalidad

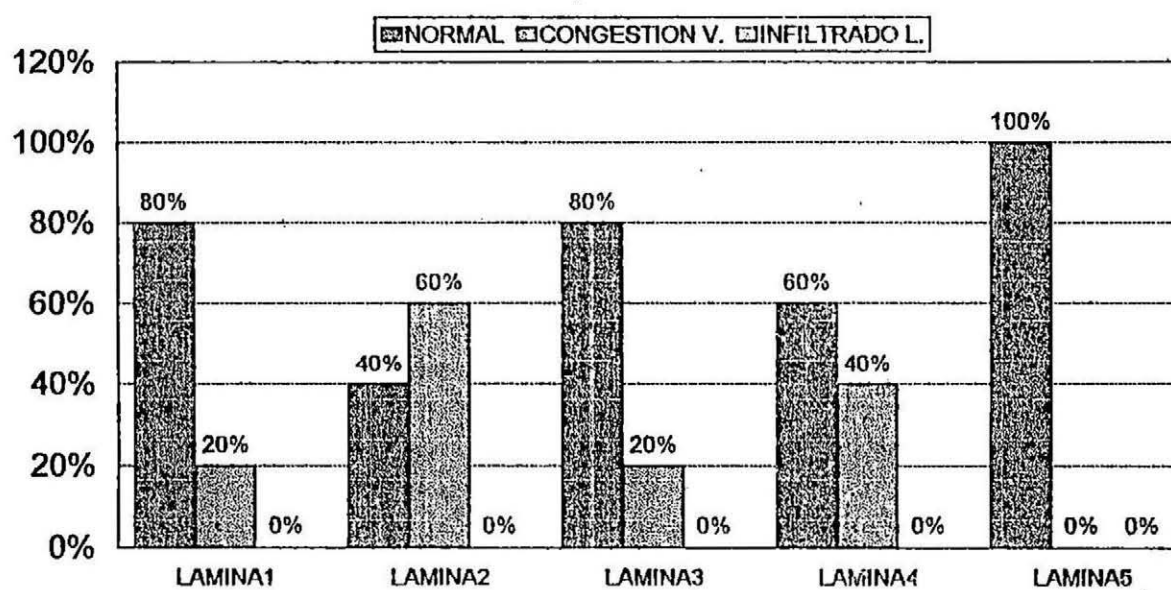
Coloración H. E. AUMENTO 10X.

TABLANº3

CAMBIOS HISTOPATOLOGICOS DE INTOXICACION AGUDA CON 20, 25 Y 30 mgr. DE HEXAFLUOROSILICATO DE MAGNESIO SEGÚN LAMINAS DE OBSERVACION

LAMINA	1 LAMINA			2 LAMINA			3 LAMINA			4 LAMINA			5 LAMINA		
DOSIS mg/lt. SINT.	20	25	30	20	25	30	20	25	30	20	25	30	20	25	30
0 NORMAL	4	0	0	2	0	0	4	0	0	3	0	0	5	0	0
1 CONGESTION V.	1	4	1	3	5	0	1	4	1	2	4	5	0	2	5
2 INFILTRADO L.	0	1	4	0	0	5	0	1	4	0	1	0	0	3	0
TOTAL	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5

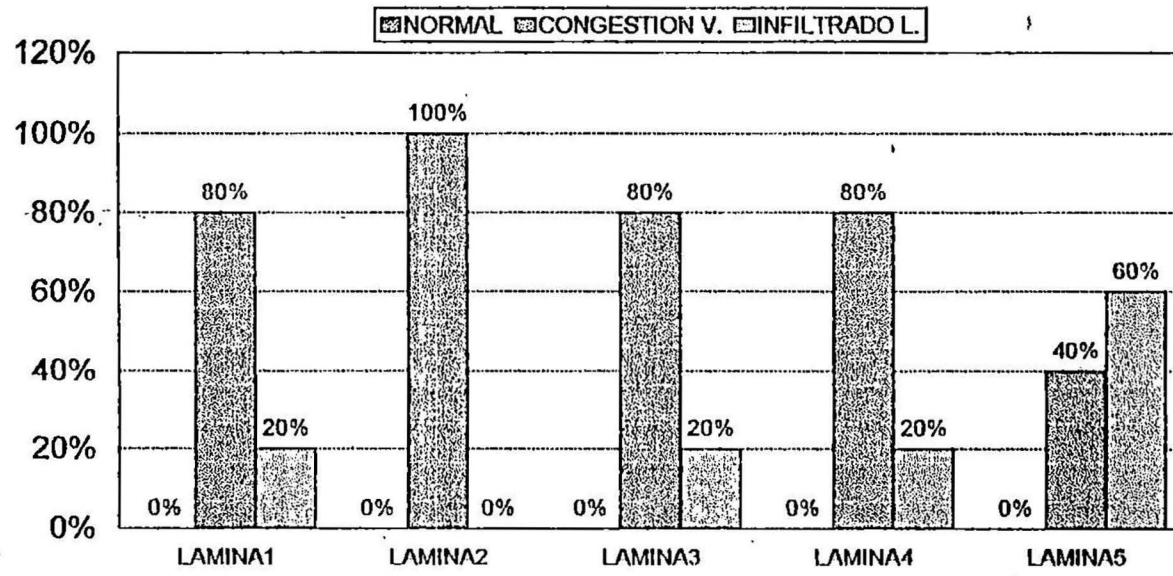
GRAFICO N°5
CAMBIOS HISTOPATOLOGICOS DE INTOXICACION AGUDA 20
mgr. HEXAFLUOROSILICATO DE MAGNESIO SEGUN
EVALUACION POR LAMINAS



GRUPO EXPERIMENTAL DOSIS : 25 mg/lit.

En la primera, tercera y cuarta láminas histológicas, se aprecian 4 casos (80%) con congestión vascular y 1 caso (20%) con infiltrado leucocitario perivascular. En la segunda lámina todos los casos presentaron congestión vascular. En la lámina cinco se encontró a 3 casos (60%) con infiltrado leucocitario y 2 (40%) con congestión vascular.

GRAFICO N°6
CAMBIOS HISTOPATOLOGICOS DE INTOXICACION AGUDA 25
mgr. HEXAFLUOROSILICATO DE MAGNESIO SEGUN
EVALUACION POR LAMINAS



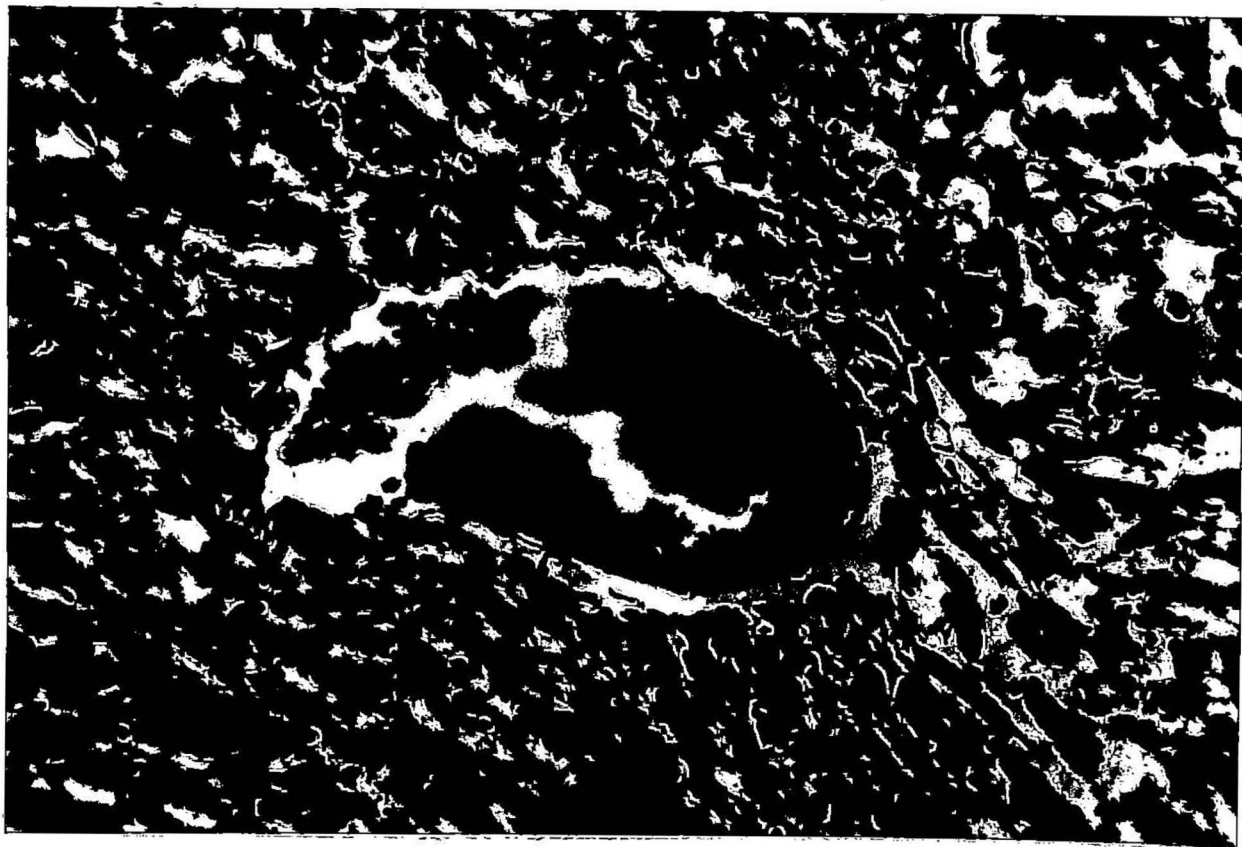


FIGURA N° 5.

Microfotografía de hígado de rata albina con dosis de 25 mg/lit de hexafluorosilicato de magnesio en el agua de consumo. Se observa a nivel de la vena central que el vaso sanguíneo está totalmente congestionado de hematíes. El parénquima hepático se encuentra alterado, no hay ordenamiento de las trabéculas hepáticas, porque los hepatocitos han perdido sus características morfológicas, al igual que los capilares sinusoidales.

Coloración H. E. Aumento 40X.

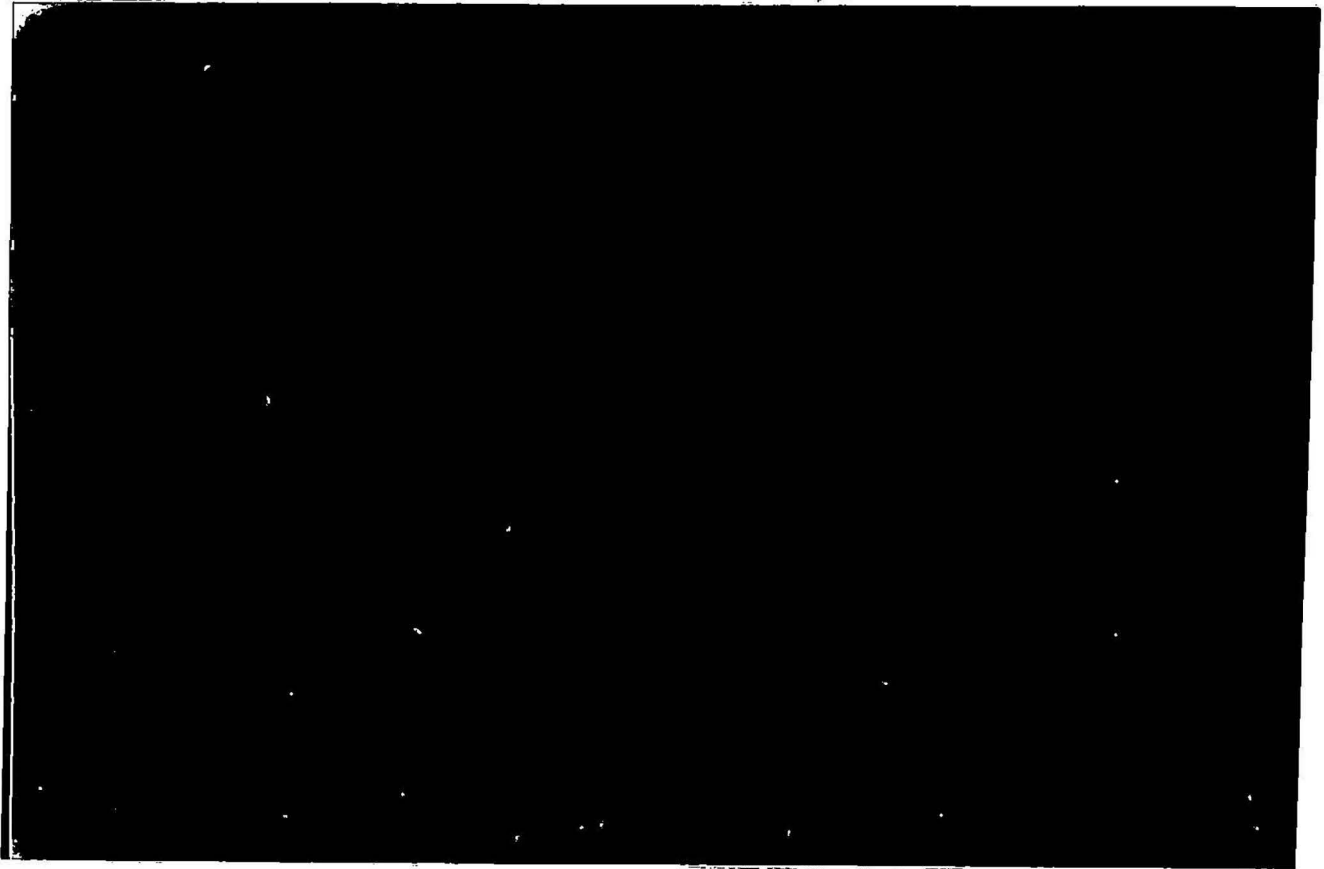


FIGURA N°6.

Microfotografía de mucosa gástrica de rata albina con dosis de 25 mgr/lt. de hexafluorosilicato de magnesio. Se aprecia moderada congestión vascular a nivel de las venas de la submucosa, el tejido conjuntivo presenta marcado edema.

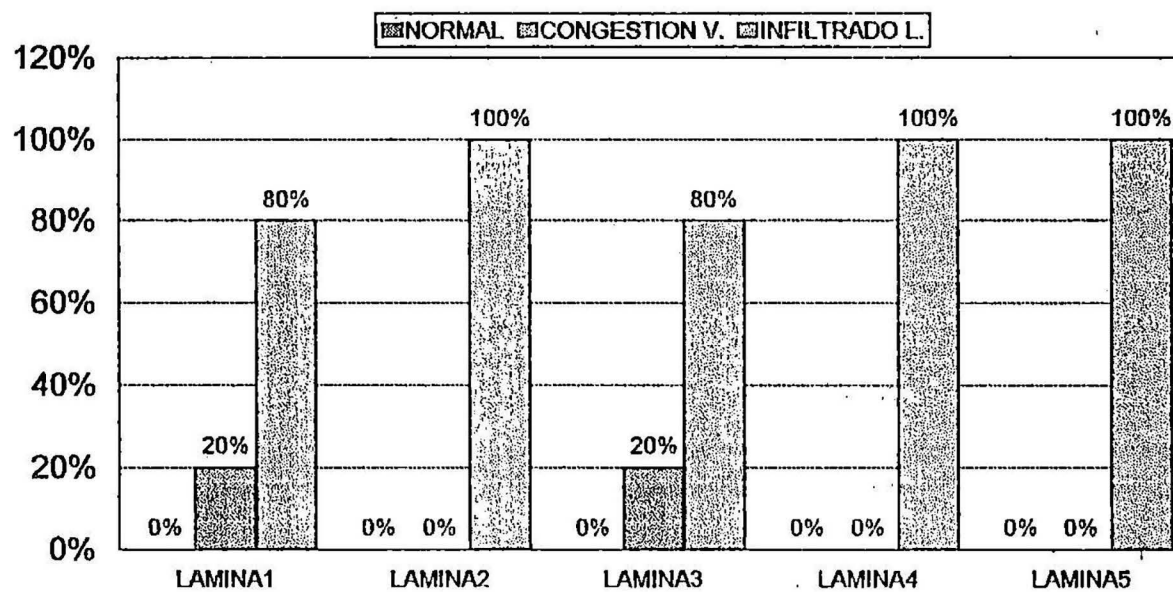
Coloración H.E. Aumento 40X.

GRUPO EXPERIMENTAL DOSIS : 30 mg/lt.

En la 1era y 3era lámina se observó 1 caso (20%) con congestión vascular y 4 (80%) con infiltrado leucocitario. En el 2do corte 5 casos(100%) presentaron infiltrado leucocitario. En las láminas 4ta y 5ta lámina se observaron a todos los casos (100%) con congestión vascular.

GRAFICO N°7

CAMBIOS HISTOPATOLOGICOS DE INTOXICACION AGUDA 30 mgr. HEXAFLUOROSILICATO DE MAGNESIO SEGUN EVALUACION POR LAMINAS



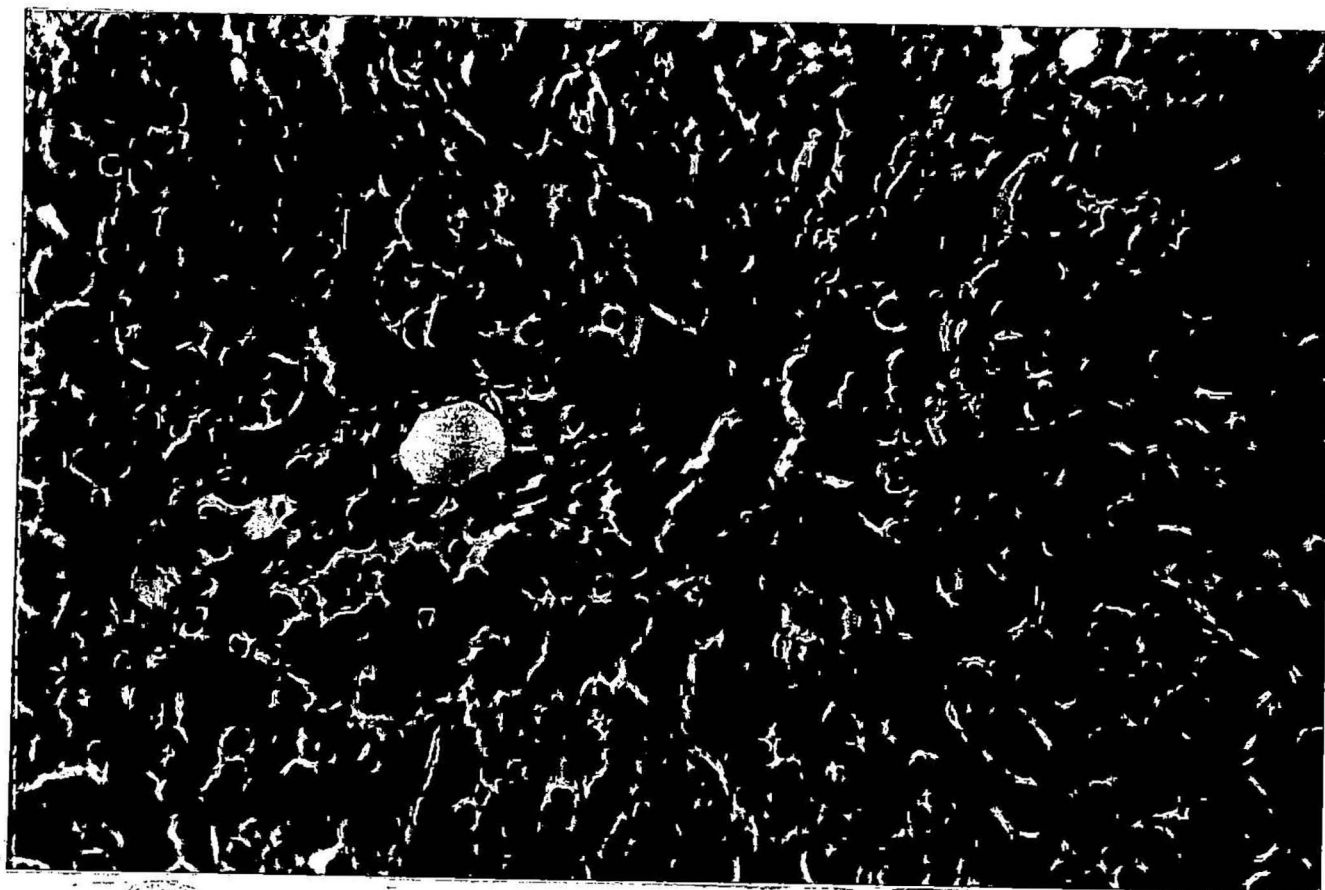


FIGURA N° 7.

Microfotografía de hígado de rata con dosis de 30 mg/lit de hexafluorosilicato de magnesio a nivel del espacio porta . Se observa arquitectura hepática totalmente alterada, la rama de la vena porta muestra gran congestión de hematíes, trabéculas hepáticas sin ordenamiento característico. Los hepatocitos se encuentran totalmente turgentes.

Coloración H. E. Aumento 40x.

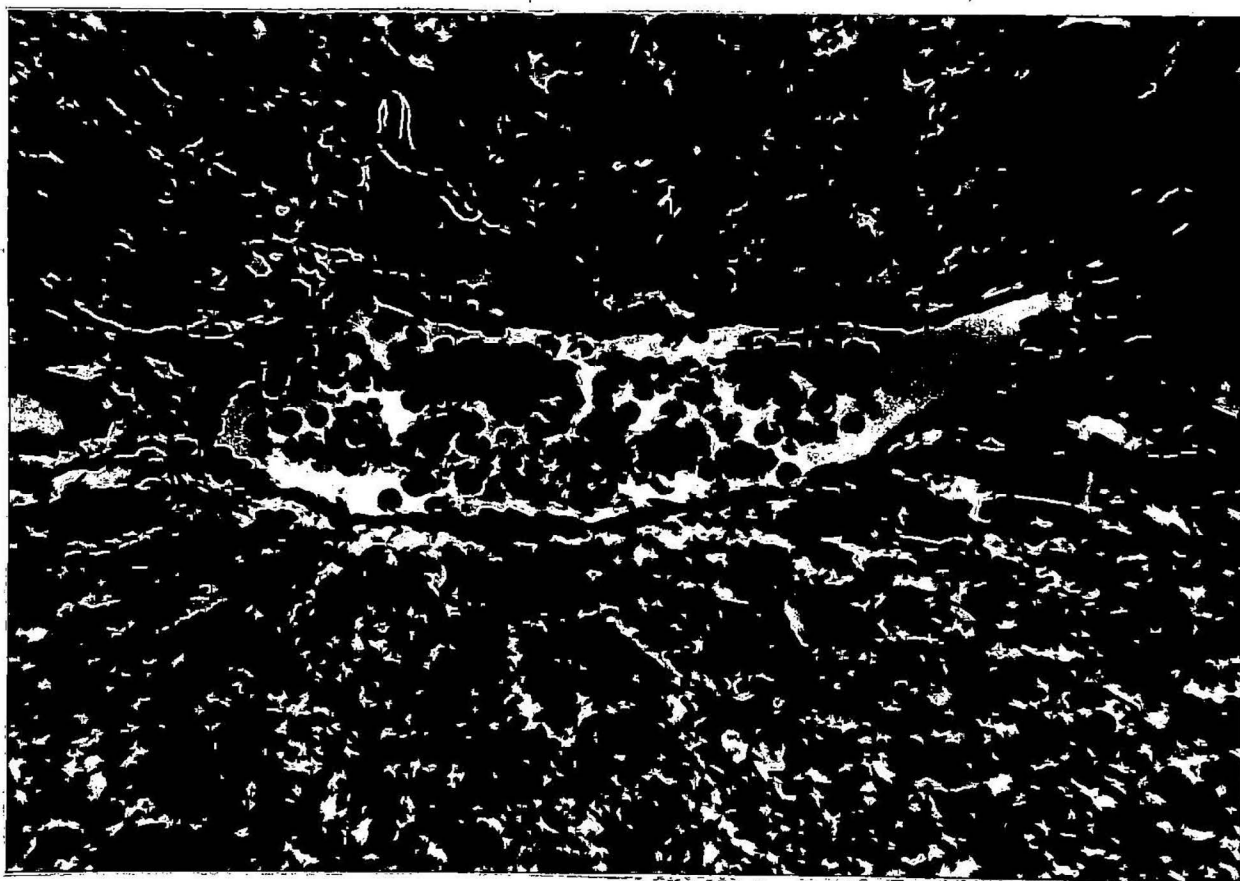


FIGURA N°8.

Microfotografía de hígado de rata albina con dosis de 30 mgr/lit de hexafluorosilicato de magnesio a nivel del espacio porta, se observa claramente la rama de la vena porta totalmente congestionada y con intenso infiltrado leucocitario perivascular. Se puede apreciar también completa desorganización de la estructura normal del hígado por alteración del trabeculado hepático que presenta hepatocitos totalmente turgentes, citoplasma más hialino de lo normal, los capilares sinusoidales no son tan notorios, pero sí resaltan las células histiocitarias estrelladas de Kupffer, se aprecian algunos hepatocitos con diámetro aumentado por marcada tumefacción.

Coloración H.E. Aumento 40X.

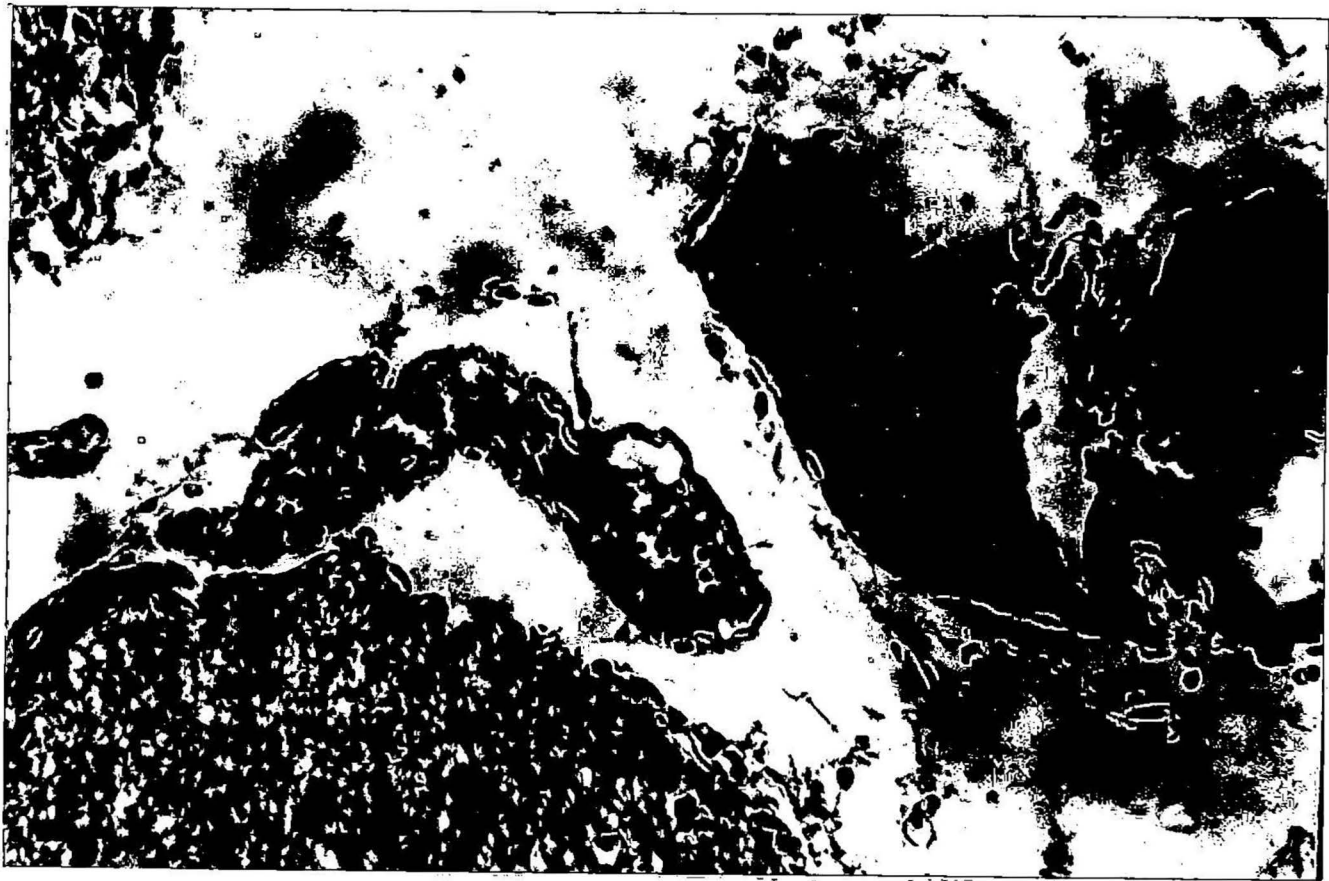


FIGURA N°9.

Microfotografía de mucosa gástrica a nivel de submucosa con 30 mgr. de hexafluorosilicato de magnesio se puede observar en las venas cerca a la capa muscular una gran congestión vascular una imagen con contenido hialino y en el tejido conjuntivo un marcado edema.

Coloración H. E. Aumento 40X.

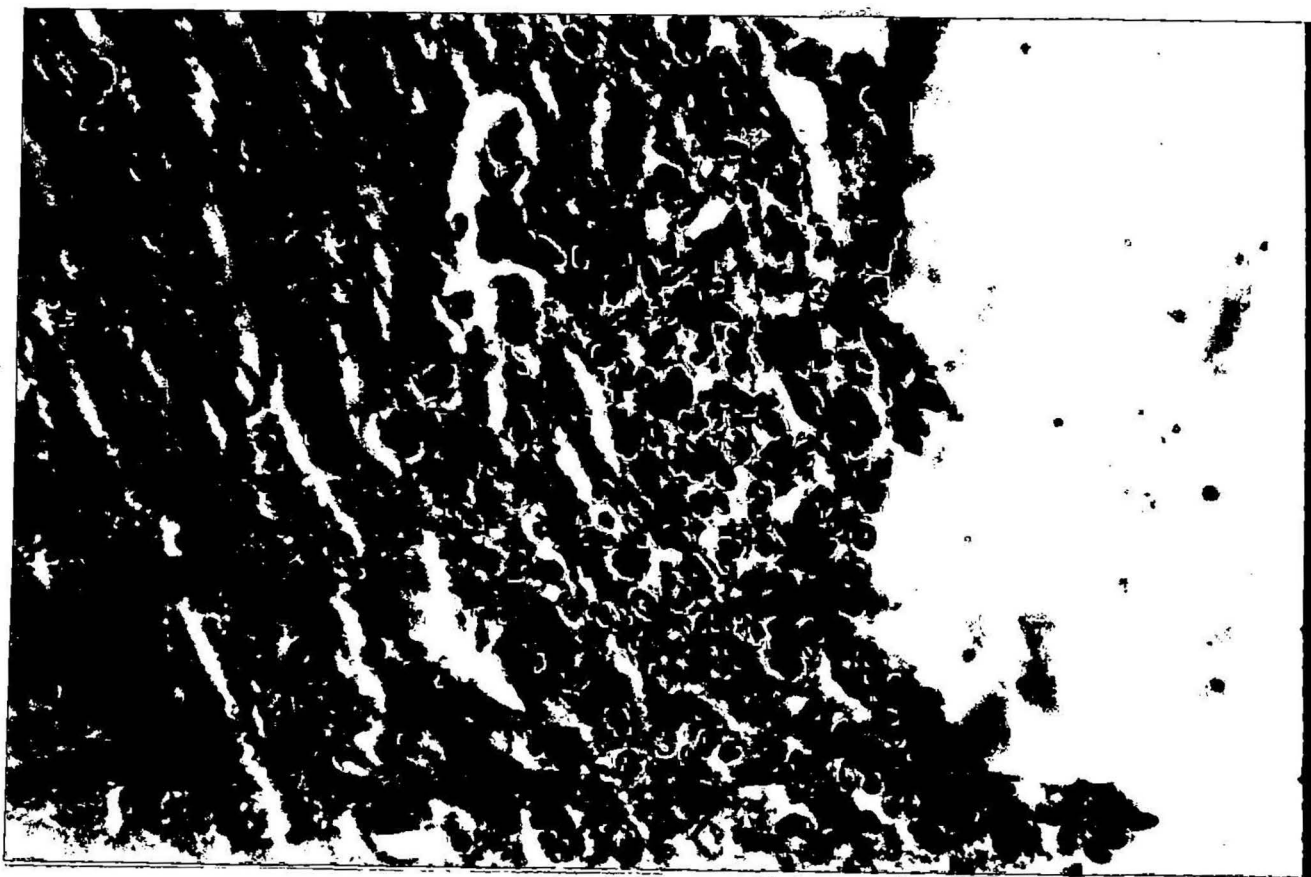


FIGURA Nº 10

Microfotografía de mucosa gástrica a nivel de pared vascular en dosis de 30 mgr. de hexafluorosilicato de magnesio se observa en la pared del vaso sanguíneo ya en la capa muscular un intenso infiltrado leucocitario perivascular.

Coloración H.E. Aumento inmersión 100X.

Para comprobar si las diferencias fueron significativas se aplicó la prueba estadística no paramétrica del chi cuadrado, obteniéndose un valor calculado de $X^2_c = 55.105$ valor que es mayor que el $X^2_{\text{tabular}} = 18.477$ para 4 grados de libertad con un nivel de significancia de ($\alpha = 0.001$) por lo que se decide aceptar la hipótesis de investigación y rechazar la hipótesis nula concluyéndose que el incremento de las dosis de hexafluorosilicato de magnesio produce mayores alteraciones histopatológicas, demostrándose la hipótesis H3($p < 0.001$).

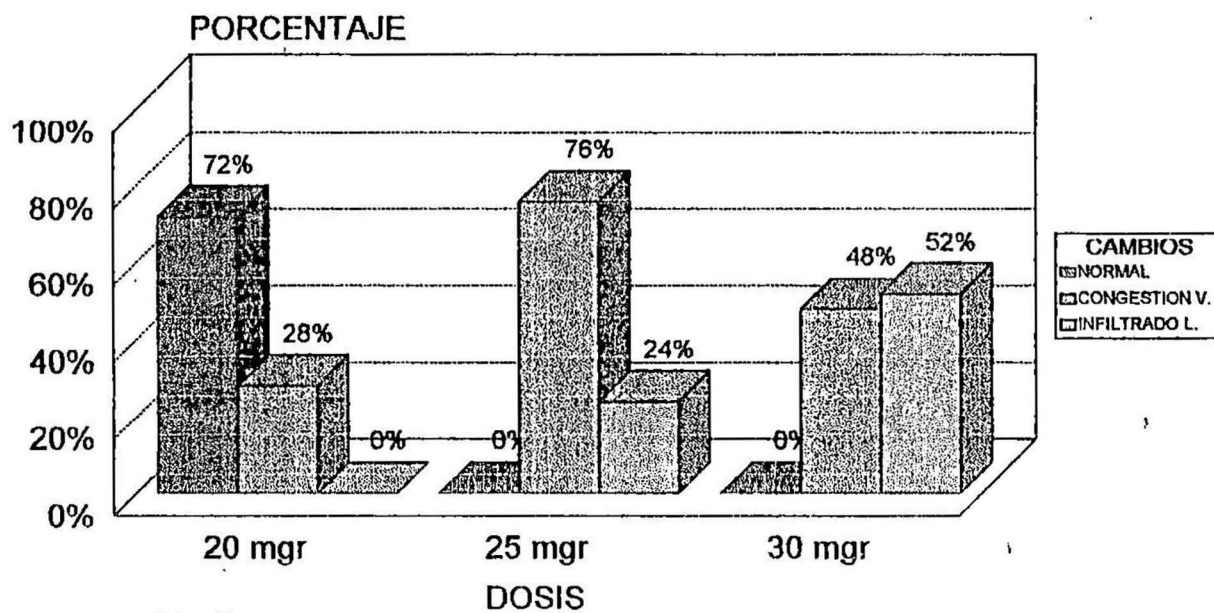
TABLA N°4

**CAMBIOS HISTOPATOLOGICOS DE LA TOXICIDAD AGUDA AL
HEXAFLUOROSILICATO DE MAGNESIO SEGÚN DOSIS**

DOSIS SIGNO	20 mgr.		25 mgr.		30 mgr.	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
0 Normal	18	72	0	0	0	0
1 Congestión v.	7	28	19	76	12	48
2 Infiltrado I.	0	0	6	24	13	52
Total	25	100%	25	100%	25	100%

$X^2_c = 55.105$ $Gl = 4$ $X^2 T = 18.477$ $P < 0.001$ (Altamente significativo)

GRAFICO N°8 CAMBIOS HISTOPATOLOGICOS DE TOXICIDAD AGUDA AL HEXAFLUOROSILICATO DE MAGNESIO SEGUN DOSIS



Por otro lado se realizaron pruebas de Kruskal Wallis para cada corte en función a la dosis hallándose los siguientes valores:

LAMINA1

DOSIS	NORMAL	CONGESTION V.	INFILTRADO L.
2.50	5	0	0
5.00	5	0	0
10.00	5	0	0
15.00	5	0	0
20.00	4	1	0
25.00	0	4	1
30.00	0	1	4
TOTAL	24	6	5

Razón H=22.189 GL=2 HT= 13,816 (P<0.001)

LAMINA 2

DOSIS	NORMAL	CONGESTION V.	INFILTRADO L.
2.50	5	0	0
5.00	5	0	0
10.00	5	0	0
15.00	5	0	0
20.00	2	3	0
25.00	0	5	0
30.00	0	0	5
TOTAL	22	8	5

Razón H= 24.713 GL= 2 HT= 13,816 (P<0.001)

LAMINA 3

DOSIS	NORMAL	CONGESTION V.	INFILTRADO L.
2.50	5	0	0
5.00	5	0	0
10.00	5	0	0
15.00	5	0	0
20.00	4	1	0
25.00	0	4	1
30.00	0	1	4
TOTAL	24	6	5

Razón H= 22.189 GL=2 (P<0.001)

LAMINA 4

DOSIS	NORMAL	CONGESTION V.	INFILTRADO L.
2.50	5	0	0
5.00	5	0	0
10.00	5	0	0
15.00	5	0	0
20.00	3	2	0
25.00	0	4	1
30.00	0	0	5
TOTAL	23	6	6

Razón H = 23.443 GL=2 (P< 0.001)

LAMINA 5

DOSIS	NORMAL	CONGESTION V.	INFILTRADO L.
2.50	5	0	0
5.00	5	0	0
10.00	5	0	0
15.00	5	0	0
20.00	5	0	0
25.00	0	2	3
30.00	0	0	5
TOTAL	25	2	8

Razón H=21.402 GL=2 (P<0.001)

CAPITULO V

DISCUSION

En la presente investigación se ha demostrado significativamente que la gravedad de los síntomas estudiados: Intranquilidad, depresión, chirrido, vómito, diarrea y muerte, se encuentran de acuerdo al aumento de la dosis. Así lo confirman las pruebas paramétrica de correlación de PEARSON y la no paramétrica del chi cuadrado. Semejantes resultados fueron hallados por ZHANG (47) que en 1990, realizó una investigación en ratas que en 3 dosis diferentes de fluoruro de sodio, demostrando que los índices de toxicidad tuvieron cambios significativos con el aumento de la dosis (47).

WITFORD G y Colabores (42) en 1990, usando ratas madres determinaron la dosis letal (DL) agudo en 50 mgr. al ser administrados intragástricamente diferentes compuestos fluorurados.

Otro estudio fue realizado para examinar la relación entre una resolución letal y los valores picos de la concentración de flúor en plasma, se concluye que la muerte debido a los efectos agudos tóxicos del flúor fueron independientemente de la forma química en la que se administró, Independientemente del vehículo (dentífrico o agua) y no previsibles en términos de un rango límite bien definido de concentración pico de flúor en plasma o de valores AUC .

Nuevamente WITHFORD (41) 1990, al estudiar las características fisiológicas y toxicología del flúor establece que la absorción gástrica está influida por la magnitud y dirección de las gradientes del PH entre los comportamientos de fluidos corporales adyacentes.

BAYLES y COL. (1) sostiene que los primeros síntomas sobrevienen en general de 5 a 6 horas después de la ingestión y son de orden digestivo, náuseas, vómitos y las que se corrobora en esta investigación.

La USPHS AD COMMITTEE ON FLUORIDE 1991 (38) Y ZHAN (48) 1990 sostiene que luego de una sobredosis de fluoruro aparece una depresión progresiva del S.N.C, que entraña un estado de postración, la muerte sobreviene por parálisis del centro respiratorio y paro respiratorio en diástole lo que concuerda con los resultados de la presente investigación.

Como consecuencia de la hipocuagulabilidad sanguínea, se producen hemorragias difusas especialmente, a nivel del cerebro, del pulmón; del riñón y también de las uñas que se ponen violáceas por lo tanto se explica que a cuanto más dosis de hexafluorosilicato de magnesio, mayores serán los daños histológicos.

Dentro de medio ácido del estómago, los iones de flúor se combinan con los protones para formar el ácido lábil, HF (PK=34)

La molécula de HF atraviesa las membranas celulares y epiteliales rápidamente (WITHFORD y PASHLEY 1984, WITHFORD 1989) una vez que entra en la mucosa, donde el PH es casi neutro, la molécula se disocia para liberar fluoruro iónico y protones asociados con este fenómeno .Existen diversos cambios estructurales relacionados con el tiempo y la dosis.

Los flujos de agua, sodio potasio, protones y otros iones se incrementan rápidamente la secreción mucosa aumenta seguida de una pérdida extensa de la capa mucosa; se presenta hiperemia, edema y hemorragia.

GORDON NIKIFUROK (1986) mencionan que el estudio de toxicidad aguda con fluoruro revela la susceptibilidad de los diferentes tejidos a las altas concentraciones de fluoruros inorgánicos. Los signos y síntomas de la toxicidad aguda afectan a la mayoría de los sistemas del cuerpo. El cuadro patológico indica gastroenteritis, daño hepático entre otros. El mecanismo de la acción tóxica resulta de la acción inhibitoria del ion fluoruro sobre la actividad de varios sistemas enzimáticos en el metabolismo intermedio (ROHOLAR 1937)

El ion flúor ejerce su acción tóxica por múltiples mecanismos, actúa sobre todo precipitando el calcio, elemento esencial de varias funciones fisiológicas, en particular sobre el tejido nervioso y muscular e inhibe, gracias a su poder complejante de cationes

tales como Fe_3^{+} y el Mg^{2+} numerosos sistemas enzimáticos, entre los que hay que citar especialmente la fosfoenolpiruvasa, las fosfatasas y las enterasas en general; e incluso el sistema de la citocromo-oxidasa.

El estómago es un órgano blanco de los efectos adversos del flúor. (BOWIE 1953, BOND-HUNT 1956, REED-SMY 1980; EASMANN 1984, 1985; PASHLEY 1984). Entre los tejidos blandos del cuerpo la mucosa gástrica es expuesta frecuentemente a altísimas concentraciones del ion.

De acuerdo a WHITFORD (46) (1992) la probable dosis tóxica del flúor ha sido establecida en 5 mg. de F/ Kg, de peso corporal, que contrasta con lo hallado en la presente investigación porque la dosis de 20mg/lit administrada a cada rata para su consumo correspondía a 250 ml que contiene la cuarta dosis, es decir 5 mgr., por lo que la dosis tóxica mínima a partir de lo observado en cada rata de 250 mgr de peso, sería de 20 mgr de hexafluorosilicato de Magnesio por Kg de peso en que se observan los primeros síntomas de intoxicación que es la depresión (60%). En el ser humano, la dosis tóxica se iniciaría con 80 mg de H_6FO_2 por Kg de peso corporal. Los estudios de WITHFORD G(1990) WITHFORD G.BIRDSOONG-WITHFORD N.(1990) y ZHANG J.(1990) revelan que el MFP es casi la mitad de tóxico que el fluoruro de sodio. En sus estudios con ratas, SHOURIE (1950) reportó valores orales LD50 de 24 horas valores de 75 a 36 mg F/Kg. respectivamente. LIM (1978)

reportó valores de 94 y 44 mg F/Kg. respectivamente en ratones (42,43,48).

LEHNINGER (49) refiere que a nivel mitocondrial durante el proceso de respiración celular, la aconitasa (aconitato hidrolasa) cataliza la transformación reversible del isocitrato a través de la formación intermedia del ácido carboxílico cis-aconitato, que normalmente no se disocia del centro activo.

La aconitasa puede promover la adición reversible de agua al enlace doble del cis-aconitato unido a la enzima mediante dos caminos diferentes de los que uno conduce a citrato y el otro a isocitrato.

La aconitasa contiene un centro de hierro-azufre que actúa tanto en la fijación del sustrato activo como en la catálisis de la adición o eliminación de agua. El citocromo P-450 cataliza reacciones de hidroxilación.

En esta etapa la hidroxilación del flúor lo hace más hidrosoluble permitiendo su excreción en la orina, desgraciadamente la hidroxilación de algunos productos con el flúor los convierte en sustancias tóxicas con lo que se subvierte el sistema de destoxificación, provocando los signos descritos en la presente investigación. Son necesarias mayores investigaciones al respecto

CAPITULO VI

CONCLUSIONES

- 1.- Con dosis de 20 mgr. de hexafluorosilicato de magnesio, el síntoma clínico más frecuente hallado en ratas albinas durante las 6 horas de observación fue la depresión (60%) seguido de intranquilidad.
- 2.-Con dosis de 25 mgr. de hexafluorosilicato de magnesio, la gravedad de los síntomas en los animales de experimentación se presentó de la siguiente manera: Depresión (100%) a la primera hora, Chirrido (60%) a la tercera hora, Vómito (40%) a la cuarta hora, Diarrea (20%) a la quinta hora , Muerte (60%) a la sexta hora.
- 3.- Con 30 mgr de Hexafluorosilicato de Magnesio, la gravedad de los síntomas clínicos, se presentó de la siguiente manera: Depresión(100%) a la primera hora, Chirrido (80%) a la segunda hora, Vómito (40%) a la tercera hora, no se registraron episodios de diarrea, muerte se presentó (60%) a la cuarta hora .
- 4.- Se han hallado diferencias altamente significativas entre la gravedad de los síntomas y el incremento de la dosis de Hexafluorosilicato de Magnesio($p < 0.001$) se halló correlación positiva moderada fuerte significativa en 1ra, 2da y 4ta hora de observación.

- 5.- Con dosis de 20 mgr. De hexafluorosilicato de Magnesio se observó una frecuencia de 72% de normalidad histológica, y 28% de congestión vascular.
- 6.- Con dosis de 25 mgr. Se observó 76% de congestión vascular y 24% de infiltrado leucocitario.
- 7.- Con dosis de 30 mgr. Se observó un 52% de infiltrado leucocitario y 48% de congestión vascular.
- 8.- Se han hallado diferencias altamente significativamente entre el incremento de la dosis y las alteraciones histopatológicas observadas en los animales de experimentación ($P < 0.001$).

RECOMENDACIONES.

A partir de los resultados de la investigación se formulan las siguientes recomendaciones:

- Se realicen investigaciones con biomarcadores para evaluar la distribución y metabolismo del flúor en concentraciones tóxicas y determinar su efecto a nivel de distintos órganos: Cerebro, Corazón, riñón, musculatura estriada.
- La adición del Flúor en la sal de consumo humano debe considerar las dosis tóxicas estudiadas en la presente investigación, así como la sintomatología descrita, con el propósito de tomar las previsiones necesarias en casos de intoxicación aguda así como efectuar estudios de seguimiento para evaluar intoxicación crónica.
- La proporción de incorporación de Flúor en la sal de consumo humano, se realiza entre 180 a 220 mg/Kg (Quimpac:180-220 mg/Kg, Emsal :200 mg/Kg) y de acuerdo a los valores hallados en el presente estudio (dosis mínima tóxica: 20 mgr/lit) la ingestión de Fluor mínima para producir reacciones tóxicas equivale 80 mgr de $Mg\ Si\ F_6, 6H\ 2O$ por Kg/peso corporal, cantidad que es excesivamente superior a la dosis habitual de consumo humano. Por lo tanto, las actuales concentraciones de Flúor en la sal están en un intervalo de seguridad, por lo que, se recomienda su consumo considerando los beneficios preventivos sobre la caries dental.

RESUMEN

Se ha realizado un estudio experimental con el propósito de evaluar la toxicidad del hexafluorosilicato de Magnesio en el comportamiento clínico y a nivel de tejido hepático y gástrico de animales de experimentación.

Se seleccionaron 40 machos de ratas albinas de raza de Sprague Dowley de 250 gr. de peso procedentes de camadas similares y se conformaron siete grupos experimentales de acuerdo a la siguiente dosis de hexafluorosilicato demostrado en el agua de consumo: Grupo A: 2.5 mgr, Grupo B: 5 mgr., Grupo C: 10 mgr., Grupo D: 15 mgr, Grupo E: 20 mgr., Grupo F: 25 mgr, Grupo G: 30 mgr. Un grupo de 5 fue considerado control al que se administró agua pura.

El comportamiento clínico fue evaluado en 6 horas a través de las siguientes manifestaciones: Intranquilidad, depresión, chirrido, vómito, diarrea y muerte.

Las ratas fueron sacrificadas luego de 6 horas de la administración de la dosis y se procedió a la preparación de cortes histológicos de hígado y mucosa gástrica.

Los resultados indican que, con dosis de 20 mgr. El síntoma más frecuente fue la depresión (60%).

Con 25 mgr. Se apreció depresión (100%) a la primera hora, chirrido (60%) a la tercera hora, muerte (60%) a la sexta hora, vómito (40%) a la cuarta hora, y diarrea (20%) a la quinta hora.

Con 30 mgr., se halló depresión (100%) a la primera hora, chirrido (80%) a la segunda hora, muerte (60%) a la cuarta hora y vómito (40%) a la tercera hora.

A la prueba del chi cuadrado se encontraron diferencias altamente significativas entre el incremento de la dosis y la gravedad de los síntomas evaluados ($P < 0.001$).

Las observaciones histopatológicas indican características normales en dosis menores de 20 mgr. Con 20 mgr. Se observó un 28% congestión vascular y 72% de normalidad, a 25 mgr. Se observó 76% de congestión vascular y 24% de infiltrado leucocitario. Con 30 mgr. Se observó 52% de infiltrado leucocitario y 48% de congestión vascular.

Se hallaron diferencias altamente significativas entre el incremento de las dosis y las alteraciones histopatológicas observadas en los animales de experimentación ($P < 0.001$).

SUMMARY

We've made an experimental investigation to evaluate the toxicity of hexafluorosilicato of magnesium above the behaviour clinical and the hepatic and gastric tissues reactions from animals of experimentation

We selection 40 male of albicans rats "**sprague dowley**" of 250 gr of weight procedents of similars boxes and we sellectionated seven experimentals groups about the next dosis of hexafluorosilicato demostrated in water that we used. Group A 2.5 mgr , group B 5 mgr , group C 10 mgr , group D 15 mgr , group E 20 mgr , group F 25 mgr , group G 30 mgr. A group of five , it was considered control that we agregated pure water.

The clinical action was evaluated in six hours through the clinical characteristics since unquiet to death.

Rats were sacrificated then of six hours of the administration of the dosis and we proceded in the cut histologic preparation of hepatic and gastric tissues .

The results indicate that dosis of 20 mgr. the symptoms more frecuency was the depression (60%).

With 25 mgr. it demostrated depression (100%) in the first time , chirrido (60%); in the third time, death (60%) in the sixth time ;vomit(40%) in the fourth time, and diarrhea (20%) in the fifth hour.

With 30 mgr. we found depression (100%) in the first time; chirrido (80%) in the second time; death (60%) in the fourth time, and vomit (40%) in the third hour.

Whith the test of chi-cuadrado we found significant differences between the dosis and the critical of the symptoms evaluated. $P < 0.001$. the histologics observations indicate normals characteristics in less dosis of 20 mgr.

with 20 mgr. we observated 28% vascular congestion and 72% of normaly 25 mgr we noticed 76% of vascular congestion and 24% of leucocitary infiltrated with 30 mgr .

we noticed 52% of leucocitary infiltrated and 48 % vascular congestion.

We found differents between the increment of the dosis and the histologics modifications observated in the study of the animals ($p < 0.001$).

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1.- BAYLESS, J.; TINANOFF, N.:** Diagnosis and treatment of acute fluoride toxicity JADA 110:209-211, 1985.
- 2.- BEAL, J.; ROCK, W.:** Fluoride gels, a laboratory and clinical investigation. Br. Dent. Journal 140:307-310 1976.
- 3.- BIRDSONG- WHITFORD, N.; WITHFORD G.; PASHEY, D.:** Effect of fluoride on canine gastric ion fluxes (abstract). J.Dent Res. 68 (Spec Iss): 335, 1989.
- 4.- BOWIE, J.; DARLOW, B.; MURRAY, M.:** The effects of NaF on gastric acid secretion. J . Physiol 122:203-208 1953.
- 5.- CARLSSON, C; ARMSTRONG W.; SINGER, L.:** Distribution and excretion of radiofluoride in the human. Proc Soc.Exp. Biol. Med. 104:235-239, 1960
- 6.- CHEN, P.; SMITH, F.; GARINER, D.; O'BRIEN, J.:** Renal clearance of fluoride. Proc Soc Exp Biol Med 92; 679-883, 1956
- 7.- CHURCH, L.:** Fluorides: use with caution. M Dent. Assoc. 19:106.

- 8.- DEN BESTEN, P.; THARIANI, H.:** Biological mechanisms of fluorosis and level and timing of systemis exposure to fluoride with respect to fluorosis. J Dent Res (this issue) 1992.
- 9.- DREISBACH,R.:** Fluoride, hydrogen fluoride and deriyates. In handbook of poisoning. Los antos: Langer, 210-213, 1960.
- 10.- DUKES, N.:** Fluoride. In:Side- effects of drugs. Annual 4, Oxford (England): Excerpta médica, 354, 1980.
- 11.- DUNIPACE, A.; BRIZENDINE, E; ZANG, W.; WILSON, M.:** Effects of aging on animal response to chronic fluoride exposure. J Dent. Res. 1995 Ene. 74 (1): 358- 68.
- 12.- DUXBURY, A; LEACH F.; LUXBURY, J.:** Acute fluoride toxicity. Br. Dent J. 153:64-66, 1982.
- 13.- EASMANN, R.; STEFLIK, D.; PASHLEY, D.:** Surface changes in rat gastric mucosa induced by sodium fluoride: a scanning electron microscopic study. J oral Pathol 13: 255-264, 1984.

- 14.- EASMAN, R.; PASHLEY, D.; BIRDSO, N.; MC KINNEY, R.:**
Recovery of rat gastric mucosa following single fluoride dosing. J
oral Pathol: 14: 779-792.
- 15.- EKSTRAND, J.; EHENEBO, M.; MC WEIGH, T.:** Fluoride
bioavailability after intravenous and oral administration: importance
of renal clearance and urine flow. Clin pharmacol ther 23:239-337,
1978.
- 16.- EKSTRAND, J. LANGE, A.; EKBERG, O.; HAMMARSTROM, L.:**
Relationship between plasma, dentine and bone fluoride
concentrations in rats following long-term fluoride administration.
Acta pharmacol toxicol (copenh) 48: 433-437, 1981.
- 17.- EKSTRAND, J.; EHENEBO, M.; MEOLA, T.:** Fluoride
pharmacokinetics during acid-base balance changes in Man. Eur J
Clin Pharmacol 18:189-194, 1980.
- 18.- EKSTRAND, J.; ALVAN, G.; BOREUS, L.; TOTO N.:**
Pharmacokinetics of fluoride in man after single and multiple oral
doses. Eur J Clin Pharmacol 12: 311-317, 1977.
- 19.- FABRE, R.; TRUHAUT, R.:** Toxicología. Edit. Parainfo, 1977.

- 20.- FRY, B. AND TAVES, D.:** Serum fluoride analysis with the fluoride electrode. J Lab. Clin Med. 75:1020-1025, 1970.
- 21.- GIBALDI, M.; PERRIER, D.:** Pharmacokinetics, vol 1, New York; marcel dekker inc. 1975.
- 22.- GRUNINGER, S.; BUTTNER, W.; CHANG, S.:** Acute oral toxicity of dentrific fluorides in rats and mice (abstract). J Dent Res 67 (Spec Iss) 334, 1988.
- 23.- HENSCHLER, D.; BUTTNER, W.;PATZ, J.:** Absorption, distribution in body fluids and Bioavailability of fluoride in: Calcium metabolism, bone and metabolic bone diadeses. Kuhlencordt, F and Kruse, H.P.L Eds Berlin heilderberg, New York; Springer-Verlag, 1975 pp 111-121.
- 24.- HOSKING, D.; CHAMBERLAIN, M.:** Studies in Man with ^{18}F , clin sci 42: 153-161, 1972.
- 25.- JOWSEY, J.; RIGGS, L.:** Effect of concurrent calcium ingestion on intestinal absorption of fluoride. Metabolism. 27; N°8, 1978.

- 26.- KAMINKY, L.; MAHONEY, M; LEACH, J.:** Fluoride:benefits and risks of exposure. Crit Rev. Oral Biol. Med. 1: 261-281, 1990.
- 27.- LIDBECK, W.; HILL, I., BEEMAN, J.:** Acute sodium fluoride poisoning. J Am Med. Assoc. 121: 826-827, 1943.
- 28.-LIM, J.; RENALDO, G; CHAPMAN, P.:** LD50 of SnF2 in the mouse compared with to the rat. Caries res 12; 177-179, 1978.
- 29.- LITOVITZ, T.; SCHMITZ, B.; BAILEY, E.:** 1989 annual report of the American Association of Poison Control Centers National Data Collection System. Am J Emerg Med. 8:394-442.
- 30.- NTP TECHNICAL REPORT 393, 1990.:** Toxicology and carcinogenesis studies of sodium fluoride in F344/N rats and B6CeF mice. NHI. Publication N°90-2846. Washington (DC):US Department of Health and Human Services.
- 31.- PASHLEY, D.; ALLISON, N.; EASMANN, R.; MCKINNEY, R.:** The effects of fluoride on the gastric mucosa of the rat. J oral Pathol 13: 535-545, 1984.

- 32.- PATZ, J., HENSCHLER, D.; VOLLER, R.:** Bioverfügbarkeit von fluorind... in verschiedenen salzen und unter den Einfluss verschiedener Nahrungsbestandteile, Dtsch Zahnartzl Z 32: 482-486, 1977.
- 33.- REED, J.; SMY, J.:** The effects of sodium fluoride on gastric acid and electrolyte output in the anesthetized cat. J Physiol 301:39-46.
- 34.- REPORT OF WHO EXPERT COMMITTEE ON ORAL HEALTH STATUS AND FLUORIDE USE.:** Fluoride and oral health. Genova. 12-14, 1994.
- 35.- SHOURIE, K.; HEIN, J.:** Preliminary studies on the caries inhibiting potencial and acute toxicity of sodium monofluorophosphate. J Dent. Res 29: 529-533, 1950.
- 36.- SPAK, C.; SJOSTEDT, S.; ELEBORG, L.:** Tissue responses of gastric mucosa after ingestion of fluoride. Br. Dent Med. J 298:1686-1687, 1989.
- 37.- SUSHEELA, A.; BHATNAGAR, M.:** Fluoride toxicity: a biochemical and scanning electron microscopic study of enamel surface of rabbit teeth. Arch- toxicol. 1993; 67(8): 573-9.

- 38.- USPHS AD HOC COMMITTEE ON FLUORIDE (1991):** Review of fluoride: benefits and risks. USPHS Department of health and Human Services.
- 39.- WITFORD, G.; PASHLEY D.; CRAWFORD, C.:** The effect of body fluid pH on fluoride distribution, toxicity and renal clearance in: Continuing Evaluation of the use of fluoride, Johansen E, Taves D, and Olsen T. West View Press, 1979 pp 1987-221.
- 40.- WITHFORD, G; PASHLEY D.; JONES, P.:** Fluoride renal clearance; a pH- Dependent event. Am J. Physiol 230: 527-532, 1976.
- 41.- WITHFORD, G.:** The metabolism and toxicity of fluoride in: Myers HM, editor. Monographs in oral science. N°13 basel (switzerland) Karger. 1989.
- 42.- WITHFORD, G :** The physiological and toxicological characteristics of fluoride. J Dent Res 69 (Spec Iss) 539-549, 1990.
- 43.- WITHFORD, G.; BIRDSOONG- WHITFORD, N.:** Acute oral toxicity of sodium fluoride and monofluorophosphate separately or in combination in rats. Caries Res 24: 121-126, 1990.

- 44.- WITHFORD, G. FINIDORI, C.: BIRSONG-WITFORD, N.:** Acute LD 50 values of F given as AaP and/ or MFP in the rat (abstract) Caries Res. 21:166.1987.
- 45.- WITHFORD, G.; PASHLEY, D.:** Fluoride absorption: the influence of gastric acidity. Calcif Tissue Int 36: 302-307, 1984.
- 46.- WITHFORD, G.; PASHLEY, D.; ALLISON, N.:** Monofluorophosphate physiology: discussion. Caries res 17 (1 suppl): 69-76.
- 47.- WITHFORD, G.:** Acute and chronic fluoride toxicity. J dent res 1992, May 71 (5): 1249-54.
- 48.- ZHANG, J.:** Experimental research on toxic reaction of rats to sodium fluoride after a short period of exposure Chung- Hua-Yu-Fang-I-Hsueh-Tsa-Chih, may 24 (3):143-5, 1990.
- 49.- LEHNINGER.-** Bioquímica. Editorial Interamericana 1995.